



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ VLASTNOSTI PLODŮ
VYBRANÝCH ODRŮD TŘEŠNÍ**

BASIC CHEMICAL PROPERTIES OF FRUITS OF SELECTED CHERRY VARIETIES

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Vojtěch Chmil

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1294/2018
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Bc. Vojtěch Chmil**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie a biotechnologie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**
Akademický rok: 2018/19

Název diplomové práce:

Základní chemické vlastnosti plodů vybraných odrůd třešní

Zadání diplomové práce:

- 1) Zpracování literární rešerše : botanická charakteristika třešně (*Prunus avium*), účinné látky obsažené v plodech třešně, využití plodů v potravinářství
- 2) Stanovení vybraných chemických parametrů studovaných odrůd třešní (bílkoviny, sacharidy, fenolické látky, vitaminy aj.)
- 3) Zpracování a vyhodnocení získaných dat
- 4) Diskuse získaných výsledků, závěry práce

Termín odevzdání diplomové práce: 10.5.2019

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Vojtěch Chmil
student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na chemickou charakteristiku devíti vybraných odrůd třešní v devíti parametrech. Byla analyzována celková a rozpustná sušina s výsledky 13,07–16,58 % resp. 14,67–19,50 °Brix, obsah popela 0,31–0,39 %, titrační kyselost 5,44–9,61 g kyseliny jablečné v 1 kg čerstvých třešní a formolové číslo 14,45–23,73 ml 0,1 M NaOH ve 100 g třešní, dále obsah hrubé bílkoviny (HB) přepočtem z celkového obsahu dusíku stanoveného Kjeldahlovou metodou 0,41–0,68 % HB. Z instrumentálních metod byla použita molekulová absorpční UV/VIS spektrofotometrie ke stanovení celkového obsahu fenolických látek 0,30–0,89 g kyseliny Gallové v 1 kg třešní a antokyanů 128–848 mg kyanidin-3-glukosidu v 1 kg třešní. Obsah sacharidů byl stanoven vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s ELSD detektorem. Obsah glukózy byl 45,45–59,49 g/kg a fruktózy 46,88–60,01 g/kg. Všechny výsledky jsou přehledně zpracovány pomocí tabulek a grafů a vyhodnoceny v diskuzi. V experimentální části je popsán princip a postup každého stanovení tak aby byl reprodukovatelný. V teoretické části je popsána botanická charakteristika třešně (*Prunus avium* L.), obsah účinných látek v jejích plodech a využití plodů v potravinářství. Teoretická část končí popisem instrumentace vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

KLÍČOVÁ SLOVA

Třešně, HPLC, fenolické látky, rozpustná sušina, celková sušina, dusíkaté látky, titrační kyselost, formolové číslo, popel, sacharidy, antokyany

ABSTRACT

Diploma thesis is focused on chemical characteristics of nine selected sweet cherry varieties in nine parameters. Total and soluble solids were analyzed with these results 13.07–16.58 % for total and 14.67–19.50 °Brix for soluble solids, ash content 0,31–0,39 %, titratable acidity 5.44–9.91 g of malic acid per 1 kg of fresh cherries and formol number 14.45–23.73 ml of 0.1 M NaOH per 100 g of cherries. Then there were analyzed crude proteins content calculated from total nitrogen content determined by Kjeldahl method with results 0.41–0.68 % of crude proteins. Molecular absorption UV/VIS spectrophotometry was used for determination of total phenolic substances 0.30–0.89 g of gallic acid per 1 kg of cherries and total content of anthocyanins 128–848 mg of cyanidine-3-glucoside in 1 kg of cherries. Saccharides were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with ELSD detector. Content of glucose was 45.45–59.49 g/kg and fructose 46.88–60.01 g/kg. All results are compiled using tables and graphs and discussed. Experimental part of the thesis also describes principles and procedures of every analysis, so it can be reproduced. In theoretical part there is described botanical characteristic of cherry tree (*Prunus avium* L.), active substances contained in its fruits and their use in food industry. At the end of the theoretical part there is described instrumentation of high-performance liquid chromatography.

KEYWORDS

Sweet cherry, HPLC, phenolics, soluble solids, total solids, nitrogenous substances, titratable acidity, formol number, ash, saccharides, anthocyanins

CHMIL, Vojtěch. Základní chemické vlastnosti plodů vybraných odrůd třešní. Brno, 2019. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/113263>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Pavel Diviš.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za jeho cenné rady, vstřícnost a vedení a děkuji také paní RNDr. Mileně Vespalcové, Ph.D., která mi byla vždy nápomocna během zpracování této diplomové práce.

OBSAH

1	ÚVOD.....	10
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	11
2.1	Botanická charakteristika třešně (<i>Prunus avium</i> L.)	11
2.1.1	Taxonomické zařazení.....	11
2.1.2	Popis stromu a pěstování.....	11
2.1.3	Charakteristika plodů	12
2.1.4	Nejčastější choroby třešní	13
2.2	Chemická charakteristika plodů třešně.....	13
2.2.1	Sacharidy	14
2.2.2	Bílkoviny a další dusíkaté látky	14
2.2.3	Lipidy	15
2.2.4	Vitamíny a minerální látky.....	15
2.2.5	Fenolické sloučeniny.....	16
2.2.6	Antokyany	17
2.2.7	Karotenoidy	18
2.2.8	Organické kyseliny.....	18
2.3	Využití plodů v potravinářství.....	18
2.3.1	Čerstvé plody.....	18
2.3.2	Nápoje	19
2.3.3	Zpracované ovoce.....	19
2.4	Vybrané odrůdy třešní	20
2.4.1	Burlat.....	20
2.4.2	Hedelfingenská.....	20
2.4.3	Sam.....	21
2.4.4	Schneiderova	21

2.4.5	Švestičková.....	21
2.4.6	Tamara.....	25
2.4.7	Tropričterova.....	25
2.4.8	Velvet	26
2.4.9	Vilma.....	26
2.5	Instrumentace vysokoúčinné kapalinové chromatografie	27
2.5.1	Čerpadla	28
2.5.2	Dávkovací zařízení	29
2.5.3	Kolony.....	29
2.5.4	Detektory.....	29
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
3.1	Popis analyzovaných vzorků	33
3.2	Stanovení celkového obsahu fenolických látek.....	34
3.2.1	Princip	34
3.2.2	Pomůcky a chemikálie.....	34
3.2.3	Postup.....	35
3.2.4	Výpočet	35
3.2.5	Výsledky.....	36
3.3	Stanovení rozpustné sušiny	38
3.3.1	Princip	38
3.3.2	Pomůcky.....	39
3.3.3	Postup.....	39
3.3.4	Výsledky.....	39
3.4	Stanovení celkové sušiny	41
3.4.1	Princip	41
3.4.2	Pomůcky.....	41

3.4.3	Postup	42
3.4.4	Výpočet	42
3.4.5	Výsledky.....	42
3.5	Stanovení celkového dusíku	44
3.5.1	Princip	44
3.5.2	Pomůcky a chemikálie.....	44
3.5.3	Postup	45
3.5.4	Výpočet	46
3.5.5	Výsledky.....	46
3.6	Stanovení titrační kyselosti.....	48
3.6.1	Princip	48
3.6.2	Pomůcky a chemikálie.....	49
3.6.3	Postup	49
3.6.4	Výpočet	49
3.6.5	Výsledky.....	50
3.7	Stanovení formolového čísla	52
3.7.1	Princip	52
3.7.2	Pomůcky a chemikálie.....	52
3.7.3	Postup	52
3.7.4	Výpočet	53
3.7.5	Výsledky.....	53
3.8	Stanovení popela	55
3.8.1	Princip	55
3.8.2	Pomůcky a chemikálie.....	55
3.8.3	Postup	56
3.8.4	Výpočet	56

3.8.5	Výsledky.....	56
3.9	Stanovení obsahu sacharidů	58
3.9.1	Princip	58
3.9.2	Pomůcky a chemikálie.....	58
3.9.3	Postup	59
3.9.4	Výpočet	59
3.9.5	Výsledky.....	61
3.10	Stanovení celkového obsahu antokyanů	64
3.10.1	Princip	64
3.10.2	Pomůcky a chemikálie.....	64
3.10.3	Postup	64
3.10.4	Výpočet	64
3.10.5	Výsledky.....	65
4	DISKUZE.....	68
5	ZÁVĚR.....	72
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	74
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	82

1 ÚVOD

Třešeň ptačí (*Prunus avium* L.) je středně velký ovocný strom rozšířený v mírném a subtropickém pásu po celém světě. Pěstují se především v sadech, jsou však s oblibou vysazovány i v zahradách a v alejích. Planě rostoucí je lze nalézt jako solitéry či v listnatých lesích. Pěstovány jsou především pro své plody, využívá se ale též dřevo, které je velmi kvalitní a používá se proto k výrobě luxusního nábytku.

Plody třešně patří mezi drobné peckoviny. Z chemického hlediska se skládají především z vody a jednoduchých cukrů, obsahují ale i bílkoviny, vitamíny a minerály. Jsou také významným zdrojem fenolických látek zejména antokyanů, které nejen že dávají třešním jejich zbarvení, ale mají pozitivní účinky na lidské zdraví. Zejména je důležitá jejich antioxidační aktivita, dále posilují imunitní systém, pomáhají v prevenci proti rakovině, srdečním onemocněním, ateroskleróze či zánětlivým reakcím. Plody třešně se využívají k přímé konzumaci i ke zpracování. Nejběžnějšími produkty jsou kompoty, džemy, alkoholické a nealkoholické nápoje.

Jsou známy stovky odrůd třešní a neustále jsou šlechtěny další. Aby bylo možné určit, která odrůda je vhodná pro dané využití či zda se vůbec vyplatí takovou odrůdu pěstovat, je potřeba vedle botanické charakteristiky znát chemické složení jejích plodů. K tomu přispívá i tato diplomová práce, jejíž cílem je chemická charakteristika plodů vybraných odrůd třešní. Stanoven byl celkový obsah fenolických látek, dusíkatých látek, antokyanů, celková a rozpustná sušina, titrační kyselost, formolové číslo, obsah sacharidů a popela.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Botanická charakteristika třešně (*Prunus avium* L.)

2.1.1 Taxonomické zařazení

Třešeň ptačí syn. třešeň obecná (*Prunus avium* L.) je ovocný strom patřící do rodu slivoň (*Prunus*), kam patří mimo jiné višně, švestka, meruňka, broskvoň, mandloň, mahalebka, trnka a přibližně dalších 200 druhů. Tabulka 1 ukazuje zařazení třešně ptačí do taxonomických kategorií.

Tabulka 1 – taxonomické zařazení třešně ptačí [1]

Taxonomická kategorie	Název česky	Název latinsky
Říše	Rostliny	Plantae
Podříše	Cévnaté rostliny	Tracheobionta
Oddělení	Krytosemenné	Magnoliophyta
Třída	Vyšší dvouděložné	Rosopsida
Řád	Růžotvaré	Rosales
Čeleď	Růžovité	Rosaceae
Rod	Slivoň	Prunus
Druh	Třešeň ptačí	<i>Prunus avium</i> L.

2.1.2 Popis stromu a pěstování

Jedná se o středně velký strom, dorůstající výšky 25–35 m, s košatou vejčitou korunou s pravidelnými silnými větvemi. Jeho silný kmen je pokryt tmavě hnědou až červenohnědou borkou odlupující se v různé širokých příčných pásech. Listová čepel je eliptická až obvejčitá na spodní straně světlejší. Řapík je až 4 cm dlouhý s 1–2 tmavočervenými žlázkami. Květy jsou oboupohlavné 2–3,5 cm dlouhé bílé, vzácně narůžovělé uspořádány po 2–6 ve zdánlivých okolících. Dožívá se 80–100 a podle některých zdrojů 150–200 let [2][3].

Třešeň je původem z přední Asie, nyní je rozšířen v mírném a subtropickém pásu po celém světě. V Evropě se jí daří např. v oblasti Karpat. V ČR je rozšířena po celém území do nadmořských výšek cca 650 m, ale sady se vysazují v teplejších oblastech ve výškách 200–400 m, nejvíce ve středních Čechách. Planě roste jako solitér či v listnatých lesích. Vysazována bývá v zahradách, alejích a sadech. Ideální doba pro výsadbu je podzim či jaro. Třešeň není náročná na vláhu, stačí jí roční srážky do 700 mm. Citlivá je však na pozdní jarní mrazíky [4].

Většina odrůd třešní je cizosprašných, což znamená, že pro opylení je potřeba pyl jiných odrůd [5]. Období dozrávání třešní se rozdělují do tzv. třešňových týdnů. Těch je sedm a první z nich začíná dnem dozrávání nejranější odrůdy ‘Rychlice německé’ [6]. Tato období jsou závislá na klimatických podmínkách, ale běžně se udávají tak, jak je znázorňuje Tabulka 2 [7].

Tabulka 2 – třešňové týdny [8]

1. třešňový týden	24. května – 6. června
2. třešňový týden	8. června – 18. června
3. třešňový týden	20. června – 30. června
4. třešňový týden	2. července – 12. července
5. třešňový týden	14. července – 24. července
6. třešňový týden	26. července – 8. srpna
7. třešňový týden	10. srpna – 20. srpna

2.1.3 Charakteristika plodů

Plody třešně jsou peckovice kulovitého až srdčitého tvaru velké 1–3 cm, mají dlouhou stopku a kulovitou až vejcovitou hladkou pecku světlehnědé barvy. Slupka může být oranžová až téměř černá, nejčastěji však má různé odstíny červené. Dužina bývá světlejší než slupka od světle červené přes růžovou až po tmavě červenou. Šťáva má různou barvitelnost, a to od žádné až po velmi silnou. Podle tuhosti dužiny se třešně dělí na chrupky s tuhou dužinou, polochrupky s polotuhou dužinou a srdcovky s měkkou dužinou. Chuť třešní se hodnotí především podle šťavnatosti, sladkosti a kyselosti [4][5].

2.1.4 Nejčastější choroby třešní

Nejčastějším škůdcem napadajícím plody třešní je vrtule třešňová (*Rhagoletis cerasi*), jedná se o dvoukřídlý hmyz z čeledi Tephritidae. Dospělec je cca 3–5 mm dlouhá černožlutá moucha s transparentními křídly s šedou kresbou, podle které se dají rozlišit jednotlivé druhy rodu *Rhagoletis*. Tímto druhem jsou napadány především třešně a višně, ale i další stromy zejména rodu *Prunus*. Častěji jsou napadány sladší a světlejší odrůdy. Dospělci se líhnou v květnu z kukel přes zimu ukrytých v půdě a samičky za teplých dní nad cca 17 °C kladou po jednom vajíčku do každého plodu. Po 1 až 2 týdnech se z vajíček líhnou larvy, které se postupně prožirají dužinou k pece a znehodnocují tak plod vznikající měkkou kaší, plod hnědne, měkne a hnije. Po několika týdnech larva opouští plod a odpadá na zem, kde se zakuklí. Účinnou ochranou je použití hloubkových insekticidů, což je ale v některých zemích omezeno či zcela zakázáno legislativou. Dalším řešením je výsadba raných odrůd, které jsou sklizeny v období před naklazením vajíček [1][10].

Otvorem vzniklým opuštěním plodu larvou mohou vnikat infekční patogeny. Nejčastěji třešně napadají houby rodu *Monilinia* a způsobují moniliovou hnilobu, kdy plody měknou a hnědnou a fruktifikační orgány houby na nich vytváří bílé polštářky často uspořádané do soustředných kružnic. Některé druhy těchto hub napadají i listy a květy, toto onemocnění se nazývá moniliová spála. Nejčastější druhy napadající třešně jsou *M. fructigena*, *M. fructicola* a *M. laxa* [1][11].

2.2 Chemická charakteristika plodů třešně

Tato kapitola se zabývá chemickým složením jedlé části plodu třešně. Budou zde uváděny průměrné procentuální obsahy látek vztažené k čerstvé hmotnosti plodu bez pecek a stopek, tedy v dužině a slupce. Ze základních energeticky významných nutrientů plody třešní obsahují především sacharidy, v menším množství také proteiny a téměř zanedbatelné procento lipidů. Obsahují také významné mikronutrienty, jako jsou vitamíny, minerální látky a fenolické sloučeniny. Dále se v třešních vyskytují aromatické sloučeniny a kyseliny, které se společně s cukry nejvíce podílejí na jejich organoleptických vlastnostech.

Chemické složení plodů významně závisí na klimatických podmínkách, ve kterých je strom vysazen. Nezanedbatelné rozdíly lze pozorovat i mezi jednotlivými ročníky [12]. Dále značně závisí na stupni zralosti, která se kromě klimatu odvíjí i od umístění plodu na stromu. Rozdíly

ve složení lze pozorovat i u různých odrůd třešní, nejmarkantnější je rozdíl v obsahu antokyanů, od kterého se odvíjí barva plodu.

Energetická hodnota třešní je průměrně 274 kJ ve 100 g a je tvořena drtivou většinou sacharidy [13]. Největší podíl plodu zaujímá voda, která vytváří vhodné prostředí pro nezbytné enzymatické reakce metabolismu a její obsah je zde průměrně 83 % [13].

2.2.1 Sacharidy

Sacharidy jsou po vodě nejvíce zastoupenou skupinou látek v třešních s průměrným obsahem kolem 15 % [13]. Většina z tohoto množství připadá na monosacharidy, z nichž jsou v třešních obsaženy hlavně glukóza a fruktóza po cca 6–7 % čerstvé hmotnosti a sorbitol s obsahem cca 3,5 % [14].

Z disacharidů je v třešních v zanedbatelném množství obsažena sacharóza, jejíž obsah se dle různých zdrojů uvádí 0–0,4 % [13][14]. Nízký obsah sacharózy lze vysvětlit její hydrolýzou enzymem invertázou na glukózu a fruktózu, pokud tento enzym není v plodech po sklizni včas tepelně inaktivován [14].

Polysacharidy tvoří buněčnou stěnu a v třešních se vyskytují ve formě potravinové vlákniny v množství okolo 2 % [13]. Potravinová vláknina se skládá z nerozpustné vlákniny tvořené neškrobovými polysacharidy jako jsou celulóza, lignin a některé hemicelulózy. Druhou složkou je rozpustná vláknina, která je směsí pektinů, rostlinných slizů a některých hemicelulóz [15][16].

2.2.2 Bílkoviny a další dusíkaté látky

Bílkoviny se v plodech třešní vyskytují především ve formě enzymů a jejich obsah je v průměru 0,9 % [13]. Obsah hrubé bílkoviny se vypočte pomocí přepočítávacího faktoru 6,25 z obsahu celkového dusíku. Ten je kromě bílkovin obsažen také ve volných aminokyselinách, nukleových kyselinách a heterocyklických sloučeninách tvořící kofaktory enzymů. Míra obsahu aminokyselin se vyjadřuje také formolovým číslem. Obsah volných aminokyselin se pohybuje kolem 0,4 % čerstvé hmotnosti [17].

2.2.3 Lipidy

Lipidy se ve většině ovocných plodů včetně třešní vyskytují v minimálním množství, třešně obsahují průměrně 0,4 % lipidů [13]. Ty se zde vyskytují především ve formě fosfolipidů, jež jsou součástí buněčných membrán (cca 45 % celkového obsahu lipidů), dále homolipidů (cca 30 %) a glykolipidů (cca 25 %). Hlavní složky homolipidové frakce jsou vosky, estery sterolů, sitosterol, oleanolová a ursolová kyselina. Glykolipidová frakce je složena z monoglykosyldiacylglycerolu, diglykosyldiacylglycerolu a acylovaných steroidních glykosidů. Fosfolipidová frakce obsahuje především fosfatidylcholin a fosfatidyletanolamin. Palmitová, oleová, linoleová a linolová kyselina tvoří přes 85 % celkových mastných kyselin v každé lipidové frakci [18].

2.2.4 Vitamíny a minerální látky

Vitamíny jsou nízkomolekulární látky rozličných struktur tvořící kofaktory mnoha enzymů a některé z nich mají dále antioxidační účinky. Dělí se na lipofilní vitamíny – A, D, E, K a hydrofilní vitamíny B, C, kyselinu listovou a biotin. Tabulka 3 ukazuje obsah vitamínů a minerálních látek v plodech třešně.

Tabulka 3 – obsah vitamínů a minerálů v plodech třešně [21]

Vitamíny	mg/kg	Minerály	mg/kg	Minerály	mg/kg
β-karoten	1,62	Draslík	2020	Selen	0,01
B ₁ (thiamin)	0,37	Fosfor	230	Síra	200
B ₂ (riboflavin)	0,6	Hořčík	94	Sodík	49
B ₃ (niacin)	3,1	Chlor	324	Vápník	190
B ₆ (pyridoxin)	0,42	Jód	1,05	Zinek	1,1
C (kys. askorbová)	94	Mangan	1	Železo	5,9
E (tokoferol)	2,6	Měď	0,7		

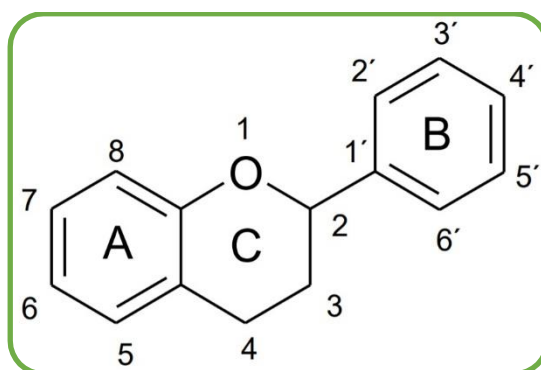
Nejvyšší obsah má v třešních vitamín C, avšak ve srovnání s jinými druhy ovoce není příliš vysoký. Vitamin C se uplatňuje jako kofaktor mnoha hydroxylačních enzymů např. při syntéze kolagenu. Dále se podílí na vstřebávání železa stěvnou a je důležitým antioxidantem.

Dalším významným antioxidantem obsaženým v třešních je tokoferol (vitamín E). Posledním lipofilním vitamínem třešní je vitamin A (retinol), který se podílí na fyziologii vidění. V třešních se však vyskytuje spíše ve formě svého provitaminu β -karotenu, který je také antioxidantem a významným rostlinným barvivem. Z vitamínů skupiny B třešně obsahují nejvíce niacin označovaný také jako vitamín PP nebo B₃. Niacin se účastní dehydrogenačních reakcí jako součást koenzymů NAD a NADP. Dále riboflavin neboli vitamín B₂, který se účastní oxidoredukčních reakcí zejména jako kofaktor FAD a FMN. Vitamín B₆ nebo také pyridoxin se účastní jako kofaktor metabolismu aminokyselin a štěpení glykogenu. V ještě o něco menším množství je v třešních obsažen thiamin (vitamín B₁) podílející se na dekarboxylaci 2-oxokyselin [19][20].

Minerální látky jsou chemické prvky v těle obsažené nejčastěji ve formě iontů, které přispívají k osmotickému tlaku krve či přenosu nervových vzruchů, případně navázané na organické sloučeniny jako jsou metaloproteiny např. kofaktory enzymů, hemoglobin apod. V ovoci se stanovuje jejich celkový obsah oxidací všech organických sloučenin spálením jako popel. Třešně obsahují podobně jako jiné druhy ovoce velké množství draslíku, dále chlor, fosfor, síru a vápník. Další prvky jsou obsaženy ve stopových množstvích [20][21].

2.2.5 Fenolické sloučeniny

Fenolické sloučeniny jsou produkty sekundárního metabolismu rostlin a zahrnují tisíce různých látek od jednoduchých molekul jakou je např. kyselina gallová až po vysokomolekulární polymery jako jsou taniny. Mezi nejrozšířenější rostlinné fenoly patří flavonoidy, které jsou velmi hojně zastoupeny mimo jiné právě v ovoci. Základní strukturou flavonoidů je flavanové jádro (Obrázek 1). Flavonoidy se dělí na flavanoly, flavanony, flavony, flavonoly, chalkony, isoflavonoidy, proantokyanidiny, antokyanidiny a antokyany, kterým je zde věnovaná vlastní kapitola. Flavonoidy jsou často konjugovány s cukernými zbytky za vzniku glykosidů. Mají mnoho pozitivních účinků na lidské zdraví. Zejména je důležitá jejich antioxidační aktivita, dále posilují imunitní systém, pomáhají v prevenci proti rakovině, srdečním onemocněním, ateroskleróze či zánětlivým reakcím [22].

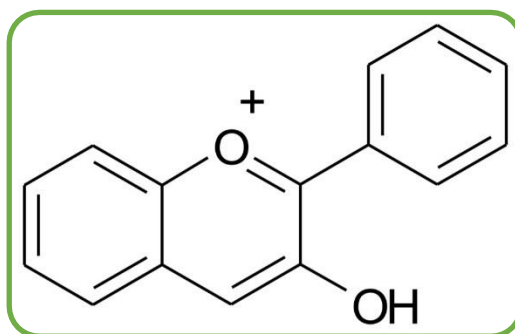


Obrázek 1 – flavanové jádro [22]

Mezi fenolické sloučeniny obsažené v třešních patří hydroxyskořicové kyseliny např. neochlorogenová (ester kyseliny kávové a chinové), chlorogenová nebo p-kumaroyl-chinová. Dále flavonoly, z nichž především rutin, kaempferol-3-O-rutinosid, kvercetin-3-O-rutinosid, kaempferol-3-O-glukosid a další. Mezi hlavní zástupce flavanolů (také flavan-3-oly) patří katechin a epikatechin [23][24].

2.2.6 Antokyany

Antokyany jsou nejdůležitější skupinou rostlinných pigmentů, které barví plody a květy různými odstíny barev od oranžové, červené až po fialovou a modrou. Strukturně se jedná o glykosidy antokyanidinů (Obrázek 2) podobných flavanolům. Jejich zbarvení je závislé na pH prostředí, ve kterém se nacházejí, čehož se využívá i při jejich stanovení.



Obrázek 2 – struktura antokyanidinu [22]

V třešních je nejběžnějším antokyanem kyanidin-3-O-rutinosid, který se zde vyskytuje až ve stovkách mg/100g. Přibližně o řád méně je zde kyanidin-3-O-glukosidu a v ještě menších koncentracích zde najdeme také peonidin-3-O-rutinosid, peonidin-3-O-glukosid a pelargonidin-3-O-rutinosid [23][24].

2.2.7 Karotenoidy

Karotenoidy jsou rostlinné pigmenty žluté, oranžové až červené barvy, hojně se vyskytující v ovoci a zelenině. Nejznámějším a nejčastěji se vyskytujícím karotenoidem je β -karoten, který je spolu s α -karotenem a β -kryptoxantinem prekurzorem vitamínu A (retinolu) [25][26].

Plody třešní obsahují jen velmi malé množství karotenoidů a to přibližně 30 ppm. Většina obsahu karotenoidů připadá na β -karoten a α -karoten. Ve stopových množstvích jsou zde dále obsaženy xantofyl, zeaxantin, β -apo-8-karotenal, α -kryptoxantin, β -kryptoxantin, lykopen a lutein [25][26].

2.2.8 Organické kyseliny

Vedle fenolických kyselin třešně obsahují jednoduché organické kyseliny, které značně ovlivňují pH plodu. Převažující je kyselina jablečná jejíž obsah se pohybuje přibližně mezi 5–10 g/kg a z toho důvodu se často jejím obsahem vyjadřuje celkový obsah kyselin v třešních. Dále třešně v podstatně menším množství obsahují kyselinu citronovou 0,1–0,5 g/kg a v téměř zanedbatelném množství také kyselinu chinovou, šikimovou a fumarovou. Obsah těchto kyselin včetně jejich vzájemných poměrů však mezi jednotlivými odrůdami značně kolísá [23][24].

2.3 Využití plodů v potravinářství

Plody třešní se dají konzumovat v čerstvém stavu nebo se dají zpracovat za účelem prodloužení jejich trvanlivosti do podoby nápojů, konzervovaných výrobků, džemů, sušených, mražených a dalších produktů.

2.3.1 Čerstvé plody

V čerstvém stavu jsou plody na trh uváděny chlazené na teplotu 0–5 °C a musí splňovat několik podmínek. Musejí být neporušené, čerstvého vzhledu, zdravé, vyloučeny jsou produkty napadené hnilobou nebo s takovými vadami, které je činí nevhodnými ke spotřebě, pevné (podle odrůdy), čisté, prakticky bez viditelných cizích látek, prakticky bez škůdců, prakticky bez poškození způsobené škůdci, bez nadměrné povrchové vlhkosti, bez cizího pachu a/nebo chuti, se stopkou. Třešně se na základě velikosti a procenta poškozených plodů v rámci dovolené odchylky jakosti dělí do tří jakostních tříd: výběr, třída I a třída II [13].

2.3.2 Nápoje

Dalšími produkty jsou koncentráty pro výrobu nealkoholických nápojů, které obsahují nejvýše 0,5 % objemových etanolu. Pro nápojový koncentrát obsahující více než 50 % hmotnostních cukrů lze použít název sirup [28].

Ovocná šťáva je zkvasitelný, ale nezkvašený výrobek získaný z jedlých částí zralého a zdravého, čerstvého, chlazeného nebo zmrazeného ovoce, a to jednoho nebo více druhů, s barvou, vůní a chutí, které jsou charakteristické pro šťávu pocházející z příslušného ovoce [28].

Nektar z třešní je zkvasitelný, ale nezkvašený výrobek obsahující minimálně 40 % objemových šťávy, dřeně nebo jejich směsi. Do nektaru je možné přidávat vodu, cukry případně med [28].

Ovocné víno je zkvašený nápoj z ovocné šťávy, který může být přislazen. Ovocné víno z třešní musí být vždy označeno jako „třešňové víno“ a musí obsahovat nejméně 700 l ovocné šťávy na 1000 l výrobku [28].

Dalším alkoholickým nápojem, který lze vyrobit z třešní je ovocný destilát neboli pálenka [28]. Jedná se o nápoj vyrobený destilací zkvašených plodů třešní a je označován jako třešňovice.

2.3.3 Zpracované ovoce

Zpracovaným ovocem se rozumí potravina upravená konzervováním s výjimkou nápojů a zmrazeného ovoce a jejíž hlavní složkou je ovoce. Řadí se sem například protlaky, džemy, marmelády a kompoty [29].

Ovocný protlak je potravina řídké až kašovitě konzistence vyrobená z jedlé části ovoce propasírováním nebo obdobným procesem, s případným přidáním přírodních sladidel, konzervovaná snížením obsahu vody, sterilací nebo přidáním konzervačního prostředku anebo kombinací uvedených způsobů [29].

Kompot je ovoce s nálevem nebo bez nálevu, v neprodyšně uzavřeném obalu, konzervované sterilací [29].

Džem výběrový (Extra) je potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody a nezahuštěné pulpy jednoho nebo více druhů ovoce, přivedené do vhodné rosolovité konzistence. Džem výběrový (Extra) méně sladký, obsahuje méně cukru, džem výběrový (Extra) speciální je se

sníženým obsahem energie a splňuje podmínky pro relevantní výživové tvrzení a džem je potravina vyrobená ze směsi přírodních sladidel, vody, pulpy a dřeně, nebo přírodních sladidel, vody a dřeně, jednoho nebo více druhů ovoce, přivedené do vhodné rosolovité konzistence [29].

Třešně se mohou sušit, v tomto případě musí výrobek obsahovat alespoň 70 % sušiny. Dále se vyrábí proslazené neboli kandované ovoce, které je konzervované zvýšením sušiny přídavkem přírodních sladidel. Je-li u kandovaného ovoce refraktometrická sušina menší než 70 %, je nutné ho konzervovat dalším konzervačním procesem [29].

2.4 Vybrané odrůdy třešní

V této kapitole je popsán vzhled a chuť plodů vybraných odrůd třešní, doba jejich dozrávání, náchylnost k chorobám a jejich využití. Dále jsou zde uvedeni vhodní opylovači jednotlivých odrůd a vhodná stanoviště pro výsadbu.

2.4.1 Burlat

Odrůda ‘Burlat’ je cizosprašná, pochází z Francie, vhodnými opylovači jsou odrůda ‘Karešova’, ‘Kaštánka’ či ‘Van’. Plodí v malých chomáčcích po celé délce větví a plody dozrávají rovnoměrně ve 2. třešňovém týdnu. Vyhovují jí sušší oblasti chráněné před jarními mrazy v nadmořských výškách 250–400 m n. m., při častějších srážkách plody pukají. Při včasné sklizni nebývá napadena vrtulí třešňovou, avšak moniliová hniloba bývá častá. Plod odrůdy ‘Burlat’ je poměrně velká polochrupka kulovitého až srdčitého mírně hrbolatého tvaru s pevnou lesklou hnědočervenou až tmavě rudou slupkou a světle červenou až červenou středně tuhou dužinou protkanou žilkami. Je šťavnatá, navinule sladká a aromatická. Plody se hodí pro přímý konzum nebo kompotování [1][31].

2.4.2 Hedelfingenská

Tato odrůda je cizosprašná, pochází z Německa, vhodnými opylovači jsou odrůdy ‘Granát’, ‘Kordia’, ‘Schneiderova’, ‘Těchlovan’ a ‘Tropřichterova’. Dozrává v 6. třešňovém týdnu, vyhovují jí sušší oblasti chráněné před jarními mrazy, při častějších srážkách plody praskají. Jsou odolné proti monilióze, vyžadují však ochranu proti vrtuli třešňové. Plody jsou velké podlouhlé tmavé chrupky s jednou stranou vypouklejší s tenkou rudohnědou slupkou s fialovým nádechem. Dužnina je tuhá a chruplavá, hnědočervené barvy se světlejšími žilkami.

Je šťavnatá aromatická, navinule sladká a mírně nahořklá. Plody se hodí především pro přímý konzum [31][32].

2.4.3 Sam

‘Sam’ je cizosprašná odrůda původem z Kanady, vhodnými opylovači jsou odrůdy ‘Granát’, ‘Kordia’, ‘Napoleonova’ či ‘Van’. Plody dozrávají v 5. třetím týdnu a jsou odolné vůči pukání. Je středně odolná proti mrazu, takže ji lze pěstovat i ve vyšších nadmořských výškách na chráněných stanovištích. Plody jsou středně velké, srdčité chrupky s tmavě červenou slupkou a tuhou růžovou dužinou s červenými žilkami a nakyslou chutí. Je vhodná jak k přímému konzumu, tak k dalšímu zpracování [31][33][34].

2.4.4 Schneiderova

Odrůda ‘Schneiderova’ je též známá jako ‘Thurn-Taxis’, podle německého rodu, na jehož pozemku byla v 19. století objevena. Jedná se o cizosprašnou chrupku dozrávající přibližně v 6. třetím týdnu, vhodnými opylovači jsou odrůdy ‘Germersdorfská’, ‘Hedelfingenská’ či ‘Tropfichterova’. Je středně odolná proti mrazu, ale málo odolná proti pukání plodů. Daří se jí spíše v sušších a teplejších polohách. Plody jsou velké, srdčité s červenohnědou slupkou. Dužina je pevná, chruplavá světle červené barvy, šťavnatá, výborné sladkokyselé chuti. Vhodná je k přímému konzumu i ke konzervování [6][35].

2.4.5 Švestičková

Jedná se o velmi starou odrůdu pocházející pravděpodobně z Francie. Dozrává ve 4. třetím týdnu, je poměrně odolná vůči praskání plodů. Plody jsou střední až menší výrazně srdčité protáhlé chrupky s temně červenou až černou slupkou a tuhou tmavě červenou dužinou navinule sladké chuti [36].



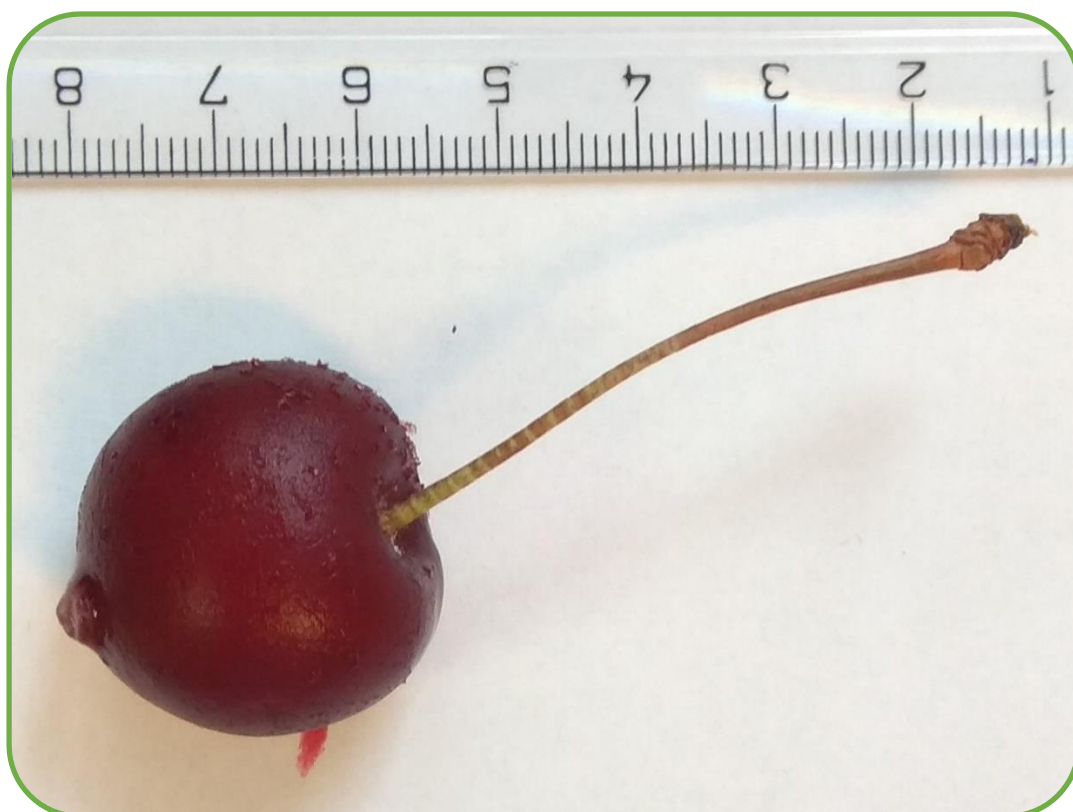
Obrázek 3 – plod odrůdy 'Burlat'



Obrázek 4 – plod odrůdy 'Hedelfingenská'



Obrázek 5 – plod odrůdy 'Sam'



Obrázek 6 – plod odrůdy 'Schneiderova'



Obrázek 7 – plod odrůdy ‘Švestičková’



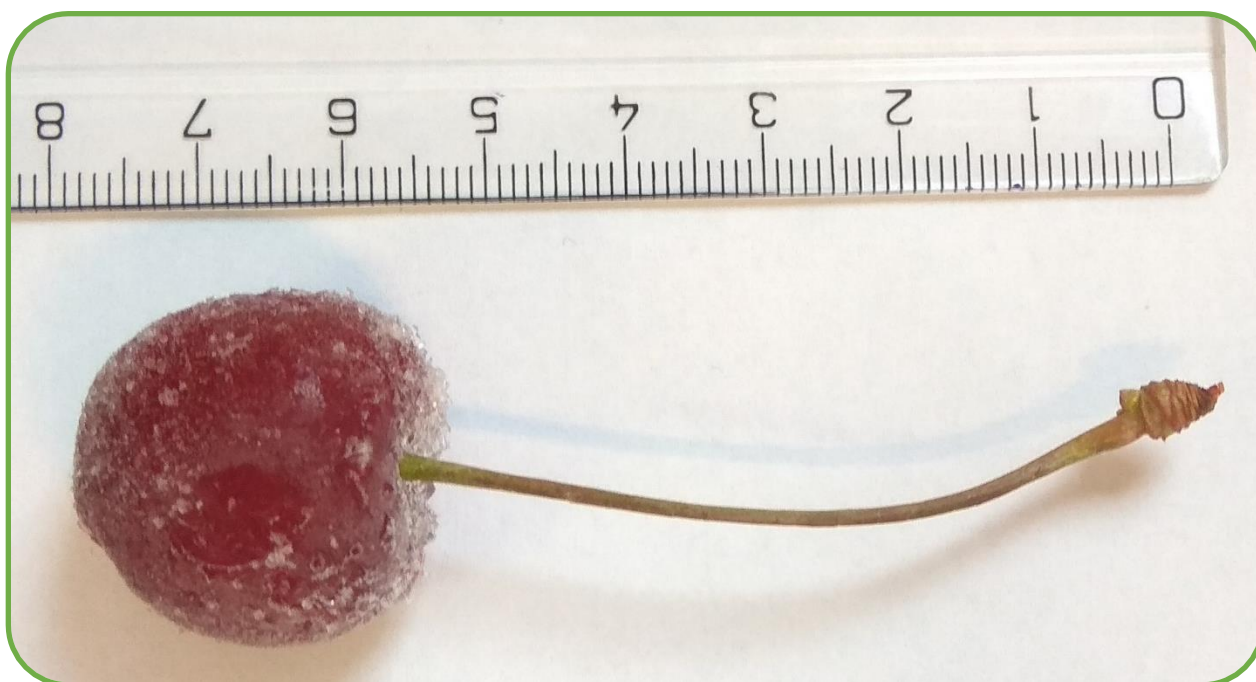
Obrázek 8 – plod odrůdy ‘Tamara’

2.4.6 Tamara

Odrůda 'Tamara' je cizosprašným křížencem odrůd 'Krupnoplodnaja' a 'Van'. Vhodnými opylovači jsou 'Burlat', 'Lapins' a 'Vanda'. Plody dozrávají mezi 6. a 7. třesňovým týdnem, je středně citlivá k jarním mrazům, praskání plodů a monilióze. Plody jsou velmi velké kulovité chrupky s červenou slupkou. Dužina je pevná sladká a šťavnatá, růžové barvy a velmi dobré chuti. Plody jsou vhodné především k přímému konzumu [37][38].

2.4.7 Tropichterova

Jedná se o cizosprašnou odrůdu původem z Německa, vhodnými opylovači jsou 'Hedelfingenská', 'Kaštánka', 'Lyonská', 'Schneiderova' a 'Vackova'. Dozrává ve 3. třesňovém týdnu, je nenáročná, vysazuje se v nadmořské výšce do 350 m, dřevo je velmi mrazu odolné, květy však středně. Plody netrpí moniliózou, ale jsou napadány vrtulí třesňovou, v dešti snadno pukají. Plody jsou středně velké mírně srdčité polochrupky s tupě zaobleným temenem. Mají lesklou tmavě rudou slupku a tuhou tmavě rudou dužinu s kořenitou, lehce navinulou chutí. Jsou vhodné k přímému konzumu i ke konzervárenství [6][39][40].



Obrázek 9 – plod odrůdy 'Tropichterova'



Obrázek 10 – plod odrůdy ‘Velvet’

2.4.8 Velvet

Odrůda ‘Velvet’ vznikla v Kanadě křížením odrůd ‘Windsor’ a ‘OP’. Plody dozrávají ve 4. třetím týdnu, jsou středně velké s tmavě červenou slupkou. Dužina je tmavě červená, šťavnatá, chutná [5].

2.4.9 Vilma

‘Vilma’ je křížencem odrůd ‘Kordia’ a ‘Vic’ a byla vyšlechtěna v 70. letech 20. století. Je cizosprašná, dobře se opyluje odrůdami ‘Halka’, ‘Kordia’ a ‘Regina’. Plody dozrávají začátkem 7. třetím týdne, jsou málo pukavé a jsou středně náchylné k monilióze. Květy jsou poměrně náchylné k mrazu. Plody jsou středně velké kulovité chrupky s tmavě červenou slupkou. Dužina je tuhá, tmavě červená, šťavnatá a chutná. Vzhledem k menší velikosti jsou plody vhodné spíše ke zpracování [31][41].



Obrázek 11 – plod odrůdy ‘Vilma’

2.5 Instrumentace vysokoúčinné kapalinové chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie, (HPLC), je separační metoda využívající k rozdělení složek směsi jejich rozdílnou rychlost distribuce mezi mobilní a stacionární fází. Stacionární fáze (SF) je imobilizována v koloně, kterou proudí mobilní fáze (MF). V té je rozpuštěn vzorek, jehož složky interagují se stacionární fází a jsou tak v koloně zadržovány po různou dobu.

Jako první byla vyvinuta kapalinová chromatografie s normálními fázemi, kde stacionární fáze je polárnější než mobilní. Jako SF se používá silikagel s navázanými nitrilovými, amino nebo diolovými skupinami. MF může být např. hexan či ethylacetát [42].

Nejběžnější je však chromatografie s obrácenými fázemi (RP-LC). SF je na silikagel navázaná hydrofobní nejčastěji oktadecylová skupina, případně o něco polárnější oktyl, butyl či fenyl. MF je polárnější než SF a používá se směs vody a polárních organických rozpouštědel jako etanol, metanol či acetonitril. Je možno použít i vícesložkové MF, pokud jako detektor využijeme hmotnostní spektrometr s pozitivní ionizací, přidává se do MF např. kyselina trifluoroctová v koncentraci přibližně 0,01 % [43].

Při RP-LC jsou nepolární analyty více zadržovány na SF a na chromatogramu se tak objeví později. Lepší separace píků lze dosáhnout použitím gradientové eluce, kdy se v průběhu analýzy postupně zvyšuje podíl organického rozpouštědla v MF. Retenci polárních analytů vykazujících acidobazické vlastnosti lze ovlivnit upravením pH mobilní fáze.

Zařízení pro kapalinovou chromatografii sestává z čerpadel mobilní fáze, dávkovacího zařízení, samotné kolony, detektoru a vyhodnocovacího procesoru, dnes téměř výhradně běžný laptop či stolní počítač se softwarem pro konkrétní systém.

2.5.1 Čerpadla

Účelem čerpadel je zajistit kontinuální nepulzující průtok mobilní fáze kolonou. K tomu se používají duální pístová vratná čerpadla, kdy každý ze dvou pístů koná přesně o 180° opačný pohyb, čímž je zajištěna kontinuita průtoku MF. Obvyklý průtok se pohybuje od stovek $\mu\text{l}/\text{min}$ až po jednotky ml/min .

Při využití gradientové eluce je třeba zajistit čerpání dvou nebo více zásobních roztoků a jejich míchání v měnicích se poměrech. To zajišťují tzv. binární a kvarterní pumpy. Binární pumpa se skládá ze dvou pístových čerpadel a každé z nich čerpá jednu složku MF. Ty jsou následně smíchány v maloobjemové směšovací komůrce, vedeny do tlumiče pulzů a do velkoobjemové směšovací komůrky, odkud MF dále pokračuje do autosampleru.

Pro míchání až čtyř roztoků se využívají kvarterní pumpy. Ta sestává z jednoho duálního pístového vratného čerpadla a ke smíchání jednotlivých roztoků MF dochází v proporcionálním ventilu umístěném před ním. Proporcionální ventil se skládá ze čtyř solenoidových ventilů, které se v každém cyklu otevírají na přesně definovanou dobu podle poměru, ve kterém mají být míchány roztoky MF [44].

2.5.2 Dávkovací zařízení

Úkolem dávkovacího zařízení je přenést vzorek z atmosférického tlaku do vysokotlakého systému bez narušení průtoku mobilní fáze a zajistit reprodukovatelnost dávkovaného množství.

Takovým dávkovacím zařízením je šesticestný ventil s dávkovací smyčkou, do které je v poloze „load“ pomocí stříkačky vnesen vzorek. Ventil se následně pootočí do polohy „inject“, ve které je náplň smyčky vytlačena mobilní fází do kolony. Dávkují se objemy od několika desítek nl až po jednotky ml.

Je možné dávkovat v režimu kompletního plnění, při kterém se naplní celý objem smyčky vzorkem. V tomto případě by se měl nastříknout dvoj až pěti násobný objem vzorku, aby se předešlo jeho případnému zředění mobilní fází, přítomnou ve smyčce před dávkováním. V režimu částečného plnění se do smyčky dávkuje méně než polovina jejího objemu. Používá se v případě, že máme omezené množství vzorku.

Kvůli eliminaci chyb způsobených manuálním dávkováním se používají autosamplery (automatické dávkovače) sestávající obvykle z karuselového podavače vialek poháněného elektromotorem a uloženého v termostatu a stříkačky s jehlou z inertního materiálu [45].

2.5.3 Kolony

Kolony jsou nerezové nebo skleněné trubice o délce od několika jednotek po několik desítek cm a průměru v řádu jednotek mm. Uvnitř je na chemicky modifikovaném povrchu navázán porézní silikagel s co největším povrchem, díky čemuž lze dosáhnout většího počtu interakcí analytu mezi MF a SF, tedy vyšší efektivitě rozdělení směsi. Silikagel je v koloně ve formě částic o velikosti několik μm , v poslední době se používají i submikrometrové náplně [46].

Před hlavní kolonu se často zařazuje menší tzv. předkolona, která chrání hlavní kolonu před nečistotami. Tato předkolona nesmí výrazně snížit kvalitu chromatogramu.

2.5.4 Detektory

Detektory slouží k identifikaci chromatograficky rozdělených látek ze směsi. Obecně je detektorem měřena nějaká fyzikálně chemická vlastnost látky, např. index lomu v průtokové cele nebo absorpance v UV/VIS detektoru, který je nejrozšířenější. Mezi další možnosti patří

elektrochemický, vodivostní či fluorescenční detektory. V poslední době se však rozmáhá použití hmotnostní spektrometrie jako detekce v tzv. HPLC/MS systémech [47].

2.5.4.1 Vlastnosti detektorů

Neselektivní detektory reagují na vlastnosti roztoku protékajícího celou, např. index lomu. Naproti tomu selektivní detektory reagují na specifickou vlastnost rozpuštěné látky, např. absorpenci v UV oblasti.

Senzitivita je určena poměrem signál/šum (S/N – signal to noise), což je poměr výšky píku ku průměrné výšce základní čáry (baseline) tzv. šumu. Za nejmenší detekovatelný signál tedy limit detekce je považován $S/N = 3:1$. Pro limit kvantifikace se doporučuje poměr S/N alespoň 10:1 [48].

Tabulka 4 – vlastnosti vybraných detektorů [48]

Detektor	Selektivita	Senzitivita
Refraktometrický	Nízká	1–5 μg
Vodivostní	Nízká	10–50 ng
ELSD	Nízká	0,1–1 ng
UV/VIS	Střední	0,5–1 ng
Elektrochemický	Vysoká	50–500 pg
Fluorescenční	Vysoká	10–100 pg
Hmotnostní	Vysoká	10–100 fg

Ideální detektor by měl splňovat následující kritéria:

- ✓ Stejně senzitivní ke všem látkám ve vzorku nebo zaznamenat jen ty požadované
- ✓ Odolný vůči změnám teploty a složení mobilní fáze
- ✓ Nízký limit detekce
- ✓ Malý objem průtokové cely
- ✓ Rychlá detekce
- ✓ Jednoduchá obsluha a robustnost

2.5.4.2 UV/VIS detektor

V HPLC je nejpoužívanější, skládá se z průtokové cely, kterou protéká mobilní fáze z kolony. Skrz tuto celu prochází světlo z deuteriové (UV) nebo wolframové (VIS) lampy a na konci je detekováno prošlé záření fotodiodou, která převádí světlo na elektrický signál, který je zaznamenáván v závislosti na čase do tzv. chromatogramu [49].

2.5.4.3 UV/VIS detektor s variabilní vlnovou délkou

Polychromatické záření ze zdroje prochází vstupní štěrbinou monochromátoru, je odraženo zrcadlem na otočnou disperzní mřížku, ze které se podle natočení odráží paprsek o vybrané vlnové délce do druhého zrcadla a výstupní štěrbiny. Absorbance analytu je stanovena ze srovnání signálu na fotodiodě umístěné za průtokovou celou se signálem na referenční fotodiodě [50].

2.5.4.4 UV/VIS detektor s diodovým polem

Záření z kombinovaného zdroje deuteriové a wolframové lampy o vlnových délkách v rozmezí 190–950 nm prochází vzorkem, dále mechanicky ovládanou štěrbinou na holografickou mřížku odkud putují rozdělené paprsky jednotlivých vlnových délek na diodové pole složené z více než 1000 fotodiod. Je tak změřeno kompletní spektrum přibližně každých 12 ms. Při proměření vzorku při různých intenzitách záření získáme absorpční spektrum, díky kterému lze identifikovat látky dle knihoven [51].

2.5.4.5 Fluorescenční detektor

Principem je měření emisního záření měřené látky vzniklého absorpcí excitačního záření produkovaného rtuťovou nebo xenonovou výbojkou. Toto primární záření je dispergováno excitačním monochromátorem a odraženo do průtokové cely. Monochromátorem je zde rychle rotující disperzní mřížka, díky čemuž je možné proměřit celé spektrum vlnových délek v rozmezí 200–900 nm. V průtokové cele dochází k rozdělení paprsku do referenční fotodiody a do emisního monochromátoru, ze kterého je paprsek odražen do fotonásobiče, kde jsou fotony převáděny na elektrický signál zesílený pomocí urychlování elektronů mezi dynodami o zvyšujícím se napětí [52].

2.5.4.6 Refraktometrický detektor

Skládá se z referenční a měrné cely, které se na začátku obě naplní mobilní fází, na obě fotodiody tak dopadá stejné množství světla. Referenční cela se poté uzavře a do měrné nateče vzorek, čímž na jednu z diod dopadá jiné množství světla, tento rozdíl je zaznamenán ve formě amplifikovaného elektrického signálu. Nevýhodou je jeho malá citlivost a náchylnost k výkyvům teploty tlaku a průtoku. Dále nemůže být použit při gradientové eluci, z důvodu změny složení mobilní fáze, a tudíž i změny indexu lomu. Výhodou je nízká cena a použitelnost při velmi nízkých průtocích [53].

2.5.4.7 Odpařovací detektor rozptylu světla

ELSD (Evaporative Light Scattering Detector) měří intenzitu rozptýleného světla po dopadu laserového paprsku na částice analytu. Nejprve je směs mobilní fáze s analytem zmlžena dusíkem ve zmlžovači. Zkondenzovaný eluent odtéká pryč a zmlžený eluent pokračuje do vyhřívané evaporační komůrky, kde dojde k odpaření mobilní fáze a do optické komůrky se dostanou již samotné částice analytu. Na nich dochází k rozptylu světla, jehož zdrojem je laserový paprsek a rozptýlené světlo je detekováno fotonásobičem [54].

ELSD je destruktivní technika, je možné ji použít pro látky neobsahující chromofor ani fluorofor, je též možné použít gradientovou eluci. Je nutné používat rozpouštědla a aditiva těkavější než analyzovaná látka a je třeba zajistit jednotnou velikost částic solutu, což je závislé především na složení mobilní fáze a jejím průtoku. Jedná se o neselektivní detektor vhodný především pro analýzu lipidů, sacharidů, makromolekul a aminokyselin. [54][55].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Popis analyzovaných vzorků

Cílem experimentální části bylo provést chemickou charakteristiku devíti odrůd třešní. Byly vybrány odrůdy ‘Burlat’, ‘Hedelfingenská’, ‘Sam’, ‘Schneiderova’, ‘Švestičková’, ‘Tamara’, ‘Tropriřterova’, ‘Velvet’ a ‘Vilma’. Vzorky dodal Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., s nímž Fakulta chemická spolupracuje. Datum sklizně jednotlivých odrůd uvádí Tabulka 5. Vzorky byly od sklizně do začátku měření 28. 11. 2018 skladovány v mrazícím boxu při -70°C a následně během zpracování v mrazničce při -18°C . Vzorky byly ke všem analýzám připraveny odstopkováním, vypeckováním a homogenizací mixérem vždy bezprostředně před prováděnou analýzou.

Tabulka 5 – datum sklizně jednotlivých odrůd

Odrůda	Datum sklizně
Burlat	19. 6. 2017
Hedelfingenská	26. 6. 2017
Sam	19. 6. 2017
Schneiderova	26. 6. 2017
Švestičková	20. 6. 2017
Tamara	30. 6. 2017
Tropriřterova	19. 6. 2017
Velvet	19. 6. 2017
Vilma	30. 6. 2017

Celkem bylo analyzováno devět parametrů a pro každý z nich byla provedena tři měření u všech odrůd. Metody pro analýzu daných parametrů byly voleny s ohledem na běžně používané postupy při chemické charakterizaci ovoce a na použití nejmodernějších instrumentálních metod. Použité metody pro jednotlivé parametry znázorňuje Tabulka 6.

Tabulka 6 – metody analýzy zvolené pro jednotlivé parametry

Parametr	Zvolená metoda
Celkový obsah fenolických látek	Spektrofotometrie s Folin-Ciocalteuovým činidlem
Rozpustná sušina	Refraktometrie
Celková sušina	Sušení
Celkový dusík	Kjeldahlova metoda
Titrační kyselost	Potenciometrická titrace
Formolové číslo	Potenciometrická titrace
Stanovení popela	Gravimetrie
Celkový obsah sacharidů	HPLC
Celkový obsah antokyanů	Spektrofotometrie – pH diferenciální metoda

3.2 Stanovení celkového obsahu fenolických látek

3.2.1 Princip

Pro stanovení celkového obsahu fenolických látek v přírodních materiálech se již řadu let používá metoda s činidlem Folin-Ciocalteu, vyvinutým a zdokonaleným americkým chemikem švédského původu Otto Folinem a rumunským lékařem Vintilă Ciocâlțeuem na začátku 20. století [56]. Činidlo je směs heteropolykyselin fosfomolybdenové a fosfowolframové. Principem metody je nespecifická oxidace fenolických látek, kdy jsou šestimocné kovové kationty Folin-Ciocalteuova činidla žlutého zbarvení redukována na modrou redukovanou formu s průměrným oxidačním číslem mezi 5 a 6 [57].

Jako nejvhodnější referenční standard pro kalibraci se volí kyselina gallová z důvodu snazšího získání a udržení požadované čistoty, uspokojivé rozpustnosti ve vodě, stability a nízké ceny [58].

3.2.2 Pomůcky a chemikálie

Spektrofotometr Helios γ , kyvety, odměrné baňky, pipety.

Kyselina gallová, uhličitan sodný, Folin-Ciocalteuovo činidlo (10x zředěné).

3.2.3 Postup

3.2.3.1 Příprava vzorku

Vzorky byly odstopkovány, vypeckovány a zhomogenizovány. Do 50 ml odměrné baňky bylo odváženo přibližně 5 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 4 desetinná místa a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Takto připravená suspenze byla zfiltrována.

3.2.3.2 Příprava kalibrační křivky:

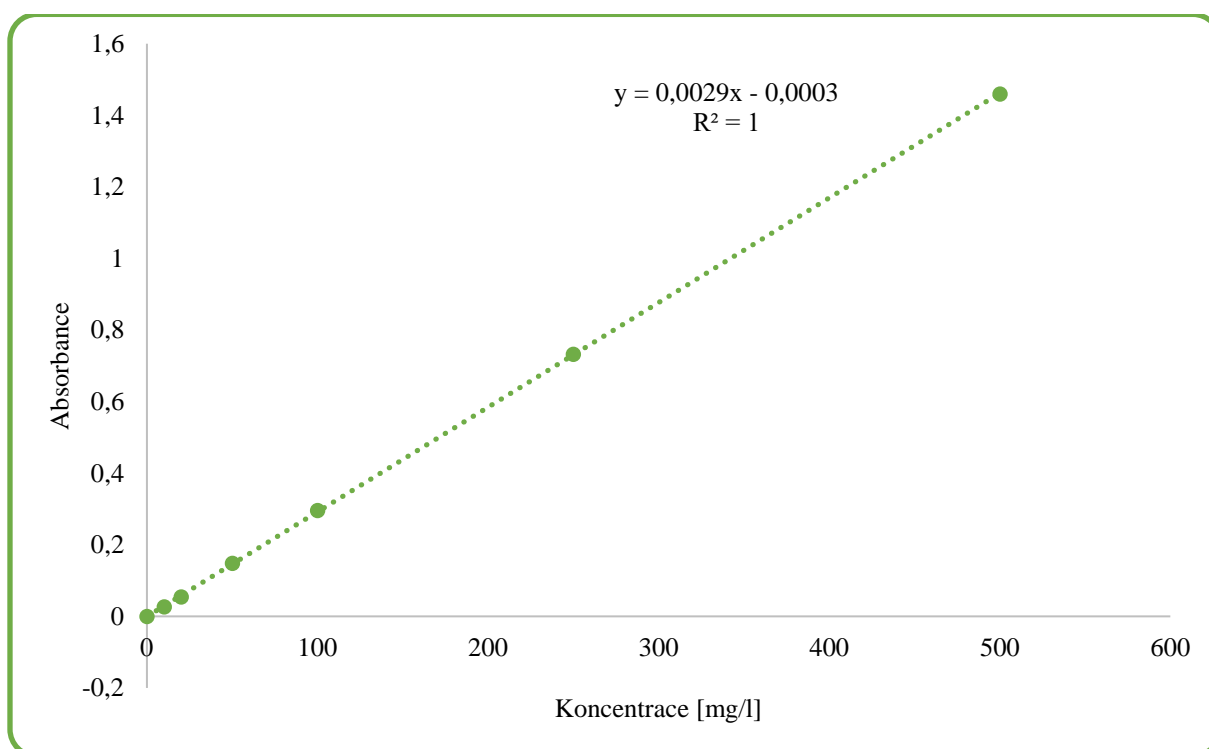
Byl připraven základní roztok kyseliny gallové o koncentraci 1 g/l (navážka 0,025 g kyseliny gallové rozpuštěná v destilované vodě v 25ml odměrné baňce). Byla připravena kalibrační řada o koncentracích 10, 20, 50, 100, 250 a 500 mg/l kyseliny gallové pipetováním 0,25; 0,5; 1,25; 2,5; 6,25 a 12,5 ml ze základního roztoku do 25ml odměrných baněk. Z těchto roztoků bylo pipetováno 0,1 ml do jednotlivých zkumavek. Do každé zkumavky byl přidán 1 ml Folin-Ciocalteuova činidla a 1 ml vody. Obsah byl důkladně promíchán. Blank byl připraven stejným způsobem, ale místo roztoku kyseliny gallové bylo přidáno 0,1 ml destilované vody. Po 5 minutách byl do každé zkumavky přidán 1 ml 7,5% roztoku uhličitanu sodného a po dalších 15 minutách byla změřena absorbance roztoků při vlnové délce 750 nm.

3.2.3.3 Vlastní měření:

Bylo provedeno analogicky k jednotlivým roztokům kalibrační řady s tím rozdílem, že místo kalibračních roztoků bylo pipetováno 0,1 ml vzorku.

3.2.4 Výpočet

Byla sestrojena kalibrační přímka, vyjadřující závislost absorbance na koncentraci kyseliny gallové (Graf 1).



Graf 1 – kalibrační přímka pro koncentraci kyseliny gallové

Naměřená data byla proložena regresní přímkou $y = 0,0029x - 0,0003$ s hodnotou spolehlivosti 1. Rovnice regresní přímky byla upravena na rovnici (3.1) pro výpočet koncentrace fenolických látek vyjádřených koncentrací kyseliny gallové ve vzorcích, kde c je koncentrace kyseliny gallové (mol/l), A je absorbance, V je objem odměrné baňky (v tomto případě 0,05 l) a m je navážka homogenátu (kg).

$$c = \frac{V \cdot (A + 0,0003)}{0,0029 \cdot m} [g \text{ kyseliny gallové} / kg \text{ čerstvé hmotnosti}] \quad (3.1)$$

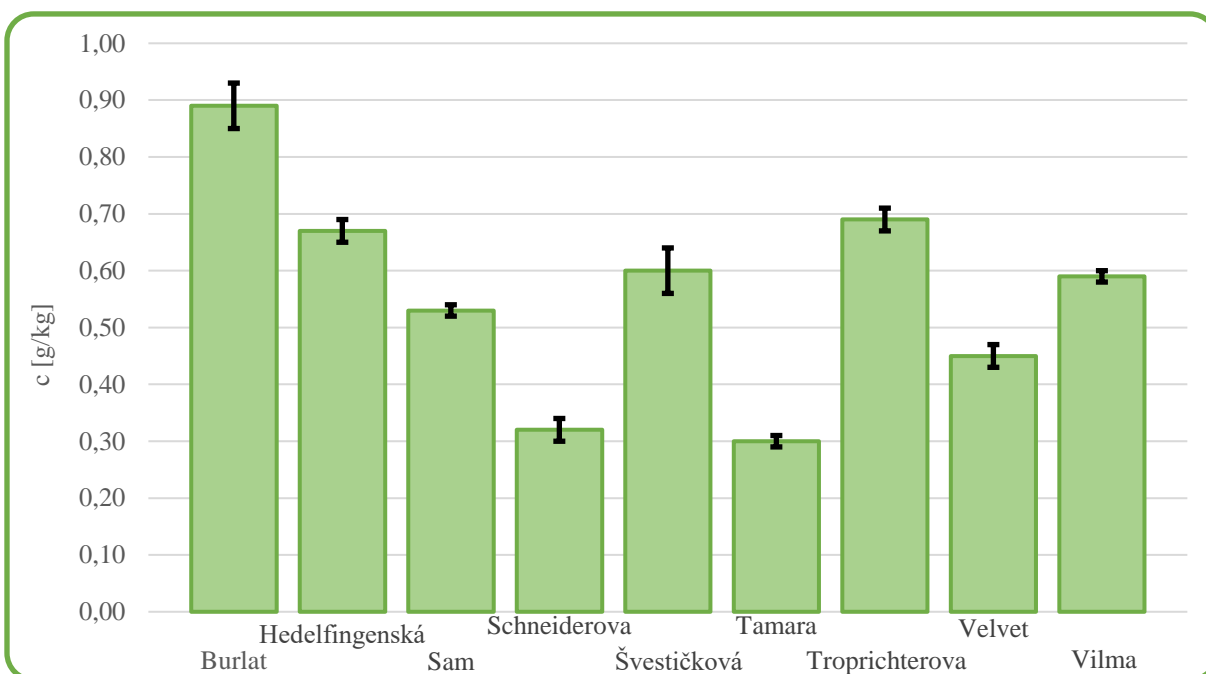
3.2.5 Výsledky

Vzorek každé odrůdy byl změřen třikrát, absorbance byla zprůměrována a z tohoto průměru byla vypočtena koncentrace fenolických látek v gramech kyseliny gallové na kilogram čerstvé hmotnosti třešní. Výsledky včetně směrodatných odchylek znázorňuje Tabulka 7 a Graf 2, v němž jsou směrodatné odchylky vyjádřeny pomocí chybových úseček.

Tabulka 7 – Naměřené hodnoty absorpance A, vypočtené koncentrace fenolických látek c a směrodatné odchylky σ

Odrůda	Měření	A	A průměr	c [g/kg]	σ
Burlat	1	0,239	0,246	0,89	0,04
	2	0,242			
	3	0,257			
Hedelfingenská	1	0,196	0,196	0,67	0,02
	2	0,202			
	3	0,190			
Sam	1	0,177	0,181	0,53	0,01
	2	0,186			
	3	0,180			
Schneiderova	1	0,101	0,105	0,32	0,02
	2	0,110			
	3	0,104			
Švestičková	1	0,161	0,163	0,60	0,04
	2	0,174			
	3	0,154			
Tamara	1	0,094	0,091	0,30	0,01
	2	0,091			
	3	0,088			
Tropichterova	1	0,180	0,185	0,69	0,02
	2	0,185			
	3	0,190			

Odrůda	Měření	A	A průměr	c [g/kg]	σ
Velvet	1	0,129	0,132	0,45	0,02
	2	0,138			
	3	0,129			
Vilma	1	0,192	0,196	0,59	0,01
	2	0,199			
	3	0,197			



Graf 2 – grafické znázornění obsahu fenolických látek v jednotlivých odrůdách

Obsah celkových fenolických látek v jednotlivých odrůdách poměrně značně kolísá a to od 0,30 g/kg u odrůdy ‘Tamara’ po 0,89 g/kg u odrůdy ‘Burlat’, což je téměř trojnásobek.

3.3 Stanovení rozpustné sušiny

3.3.1 Princip

Rozpustnou sušinu tvoří jednoduché mono a disacharidy rozpustné ve vodě a ovlivňují tak index lomu ovocné šťávy. Jejich obsah je tedy měřen pomocí refraktometru a vyjádřen obsahem

sacharózy. Naměřený index lomu lze pomocí tabulek přepočítat na obsah sacharózy, avšak námi použitý refraktometr disponuje přímo stupnicí Brix pro její odečet [59].

3.3.2 Pomůcky

Stolní refraktometr AR4, zkumavky.

3.3.3 Postup

3.3.3.1 Příprava vzorku

Vzorky byly odstopkovány a vypeckovány, zhomogenizovány a zfiltrány. Filtrát byl jímán do zkumavek a po vytemperování na 20 °C změřen refraktometrem.

3.3.3.2 Vlastní stanovení

Refraktometr byl vytemperován průtokem vody na 20 °C. Na spodní hranol byl nakápnut vzorek tak, aby pokryl celou plochu hranolu. Na dolní stupnici byl odečten index lomu s přesností na čtyři desetinná místa, na horní stupnici byl odečten obsah rozpuštěné sacharózy s přesností na 0,25 °Brix, kdy 1 °Brix vyjadřuje obsah 1 g sacharózy ve 100 g roztoku.

3.3.4 Výsledky

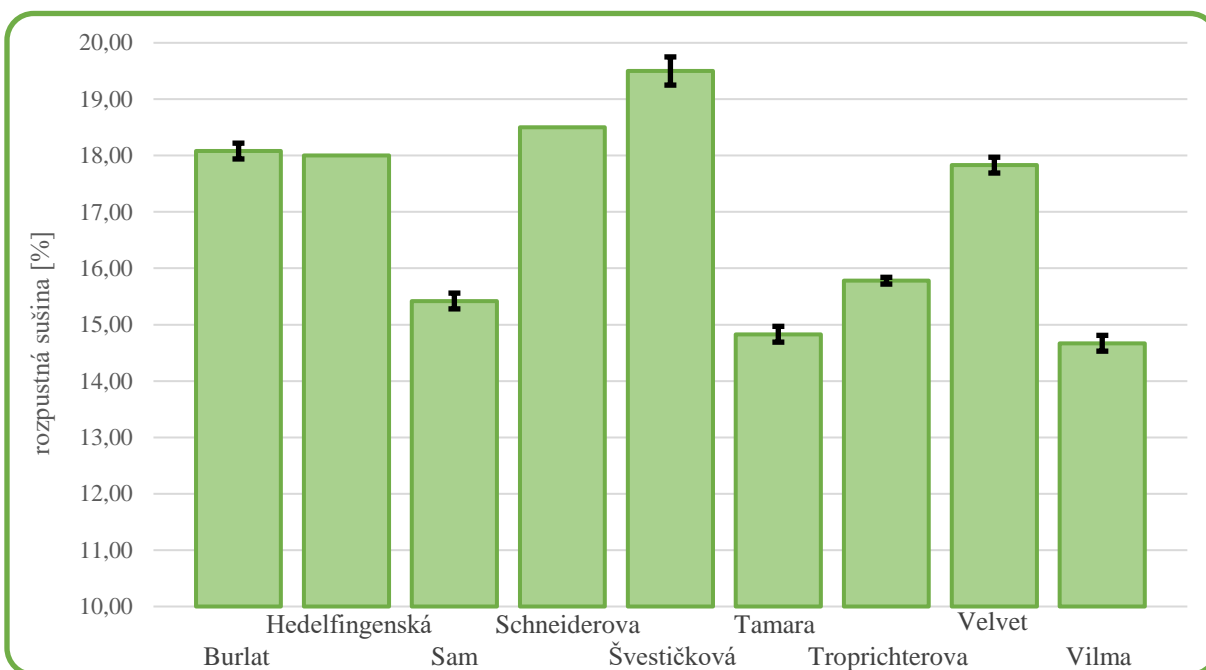
Byla provedena tři měření pro každou odrůdu, vždy byl odečten index lomu a obsah rozpuštěné sacharózy ve °Brix. Výsledky byly zprůměrovány a jejich zpracování ukazuje Tabulka 8 a Graf 3. Směrodatná odchylka je vyjádřena pro obsah sušiny a v grafu je vyjádřena chybovými úsečkami, kromě hodnot, kde je nulová.

Tabulka 8 – Naměřené hodnoty indexu lomu n_{20} , sušiny a směrodatné odchylky sušiny σ

Odrůda	Měření	n_{20}	Průměr n_{20}	Sušina [°Brix]	Sušina průměr [°Brix]	σ
Burlat	1	1,361 0	1,360 7	18,25	18,08	0,14
	2	1,360 5		18,00		
	3	1,360 5		18,00		

Odrůda	Měření	n ₂₀	Průměr n ₂₀	Sušina [°Brix]	Sušina průměr [°Brix]	σ
Hedelfingenská	1	1,360 5	1,360 5	18,00	18,00	0,00
	2	1,360 5		18,00		
	3	1,360 5		18,00		
Sam	1	1,356 0	1,356 3	15,25	15,42	0,14
	2	1,356 5		15,50		
	3	1,356 5		15,50		
Schneiderova	1	1,361 5	1,361 3	18,50	18,50	0,00
	2	1,361 0		18,50		
	3	1,361 5		18,50		
Švestičková	1	1,362 5	1,363 0	19,25	19,50	0,25
	2	1,363 5		19,75		
	3	1,363 0		19,50		
Tamara	1	1,355 2	1,355 4	14,75	14,83	0,14
	2	1,355 5		14,75		
	3	1,355 5		15,00		
Tropichterova	1	1,357 0	1,357 0	15,85	15,78	0,06
	2	1,357 0		15,75		
	3	1,357 0		15,75		
Velvet	1	1,360 0	1,360 2	17,75	17,83	0,14
	2	1,360 0		17,75		
	3	1,360 5		18,00		

Odrůda	Měření	n ₂₀	Průměr n ₂₀	Sušina [°Brix]	Sušina průměr [°Brix]	σ
Vilma	1	1,355 0	1,355 1	14,50	14,67	0,14
	2	1,355 2		14,75		
	3	1,355 0		14,75		



Graf 3 – Obsah rozpustné sušiny v jednotlivých odrůdách

Obsah rozpustné sušiny je v jednotlivých odrůdách poměrně konstantní a kolísá v rozmezí od 14,67 °Brix u odrůdy ‘Vilma’ do 19,50 °Brix u ‘Švestičkové’.

3.4 Stanovení celkové sušiny

3.4.1 Princip

Procentuální obsah sušiny se vypočte z rozdílu hmotnosti čerstvého ovoce a sušiny získané sušením při 105°C [59].

3.4.2 Pomůcky

Sušárna, exsikátor, analytické váhy, hliníkové vysoušecí misky.

3.4.3 Postup

Do předsušených hliníkových misek bylo odváženo přibližně 5 g vypeckovaných, odstopkovaných a zhomogenizovaných třešní s přesností na 4 desetinná místa. Vzorky byly sušeny do konstantní hmotnosti v sušárně při 105 °C a následně po vychladnutí v exsikátoru zváženy opět na 4 desetinná místa.

3.4.4 Výpočet

Z rozdílu hmotnosti před a po sušení byl vypočten obsah sušiny dle vztahu (3.2), kde m je hmotnost homogenátu z čerstvého ovoce a m_s je hmotnost sušiny obojí v (g).

$$\% \text{ sušiny} = \frac{100 \cdot m_s}{m} [\% \text{ sušiny v čerstvé hmotnosti}] \quad (3.2)$$

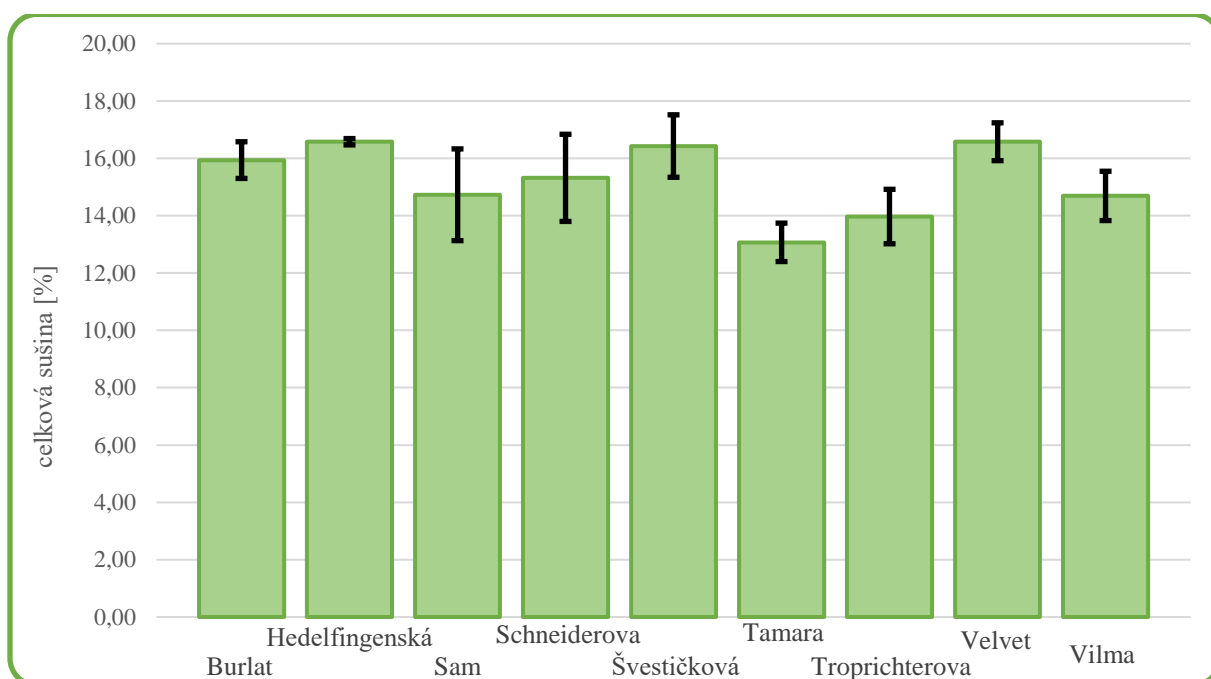
3.4.5 Výsledky

Vzorek každé odrůdy byl sušen a zvážen třikrát. Výsledky včetně směrodatných odchylek uvádí Tabulka 9 a Graf 4.

Tabulka 9 – Vypočtené hodnoty celkové sušiny a směrodatné odchylky σ

Odrůda	Měření	Sušina [%]	Sušina průměr [%]	σ
Burlat	1	15,51	15,94	0,64
	2	16,68		
	3	15,64		
Hedelfingenská	1	16,48	16,58	0,11
	2	16,70		
	3	16,55		
Sam	1	14,17	14,73	1,60
	2	13,49		
	3	16,53		

Odrůda	Měření	Sušina [%]	Sušina průměr [%]	σ
Schneiderova	1	14,18	15,32	1,52
	2	14,73		
	3	17,04		
Švestičková	1	16,86	16,43	1,09
	2	17,25		
	3	15,19		
Tamara	1	12,30	13,07	0,67
	2	13,51		
	3	13,41		
Tropirichterova	1	14,32	13,97	0,95
	2	14,69		
	3	12,89		
Velvet	1	16,16	16,58	0,66
	2	17,34		
	3	16,25		
Vilma	1	13,75	14,69	0,86
	2	14,88		
	3	15,44		



Graf 4 – Obsah celkové sušiny v jednotlivých odrůdách

Obsah celkové sušiny vychází v rozmezí 13,07 % u odrůdy ‘Tamara’ až 16,58 % shodně u odrůd ‘Hedelfingenská’ a ‘Velvet’.

3.5 Stanovení celkového dusíku

3.5.1 Princip

Obsah celkového dusíku byl stanoven Kjeldahlovou metodou. Ovocná sušina se mineralizuje varem s kyselinou sírovou a Weiningerovým katalyzátorem, čímž z organicky vázaného dusíku vznikne síran amonný. Z něj se v alkalickém prostředí uvolňuje amoniak, který je s vodní parou destilován do přebytku kyseliny sírové a ta se stanoví titračně [59].

3.5.2 Pomůcky a chemikálie

Sušárna, exsikátor, hliníkové vysoušecí misky, mineralizační blok Kjeldatherm KT, destilační systém Vapodest, byreta, pipety, odměrná baňka, titrační baňka.

Weiningerův katalyzátor (90 g síranu sodného, 7 g síranu rtuťnatého, 1,5 g síranu měďnatého a 1,5 g selenu), kyselina sírová, hydroxid sodný, dihydrát kyseliny šťavelové, fenolftalein, Tashirův indikátor.

3.5.3 Postup

3.5.3.1 Příprava a mineralizace vzorku

Vypeckované, odstopkované a zhomogenizované třešně byly sušeny do konstantní hmotnosti při 105°C. Do skleněné mineralizační trubice byl odvážen necelý 1 g sušiny s přesností na 4 desetinná místa a přibližně 2 gramy Weiningerova katalyzátoru. Dále bylo přidáno 10 ml koncentrované kyseliny sírové a trubice byly vloženy do mineralizačního bloku na 1,5 hodiny. Čirá barva vzorku indikuje ukončení mineralizace.

3.5.3.2 Příprava odměrných roztoků

Do 100ml odměrné baňky byl připraven roztok kyseliny šťavelové o koncentraci 0,05 mol/l odvážením a kvantitativním převedením vypočteného množství dihydrátu s přesností na 4 desetinná místa. Tento roztok byl třikrát titrován připraveným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l na fenolftalein do prvního trvalého růžového zbarvení.

Dále byl připraven roztok kyseliny sírové o koncentraci 0,05 mol/l, který byl standardizován titrací odměrným roztokem hydroxidu sodného na Tashirův indikátor do prvního trvalého žlutého zbarvení.

3.5.3.3 Vlastní stanovení

Po vychladnutí mineralizátu byla do trubic přidána trocha destilované vody, aby došlo k úplnému rozpuštění síranu amonného a několik kapek fenolftaleinu kvůli indikaci alkalického prostředí během destilace. Mineralizační trubice byla následně vložena do destilačního přístroje. Do titrační baňky bylo pipetováno 25 ml odměrného roztoku kyseliny sírové o koncentraci 0,05 mol/l. Titrační baňka byla vložena do destilačního přístroje a doplněna destilovanou vodou tak, aby byl konec hadičky vedoucí z chladiče ponořen pod hladinou. Destilační přístroj byl spuštěn, čímž byl obsah mineralizační trubice zalkalizován 30% roztokem hydroxidu sodného a vzniklý amoniak byl 4,5 minuty destilován a jímán do vložené titrační baňky s kyselinou sírovou. Po ukončení destilace byl titrován přebytek kyseliny sírové odměrným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l.

3.5.4 Výpočet

Ze spotřeby odměrného roztoku hydroxidu sodného byl vypočítán obsah celkového dusíku v hmotnostních procentech v čerstvém ovoci dle vztahu (3.3), kde M_N je molární hmotnost dusíku, která činí 14,01 g/mol, w_s je hmotnostní zlomek sušiny v čerstvém ovoci, $c_{H_2SO_4}$ je koncentrace standardního roztoku kyseliny sírové (mol/l), $V_{H_2SO_4}$ jeho objem (0,025 l), V_{NaOH} je spotřeba roztoku hydroxidu sodného (l), c_{NaOH} je jeho koncentrace (mol/l) a m je navážka sušiny (g).

$$\% N = \frac{100 \cdot 2 \cdot M_N \cdot w_s \cdot (c_{H_2SO_4} \cdot V_{H_2SO_4} - \frac{c_{NaOH} \cdot V_{NaOH}}{2})}{m} [\% \text{ v čerstvé hm.}] \quad (3.3)$$

Obsah hrubé bílkoviny byl vypočten dle vztahu (3.4).

$$\% \text{ hrubé bílkoviny} = 6,25 \cdot \% N [\% \text{ v čerstvé hmotnosti}] \quad (3.4)$$

Vztah vyplývá z faktu, že průměrný obsah dusíku v bílkovinách je pro ovoce 16 %, přepočítávací faktor je tedy 6,25 (100:16) [60].

3.5.5 Výsledky

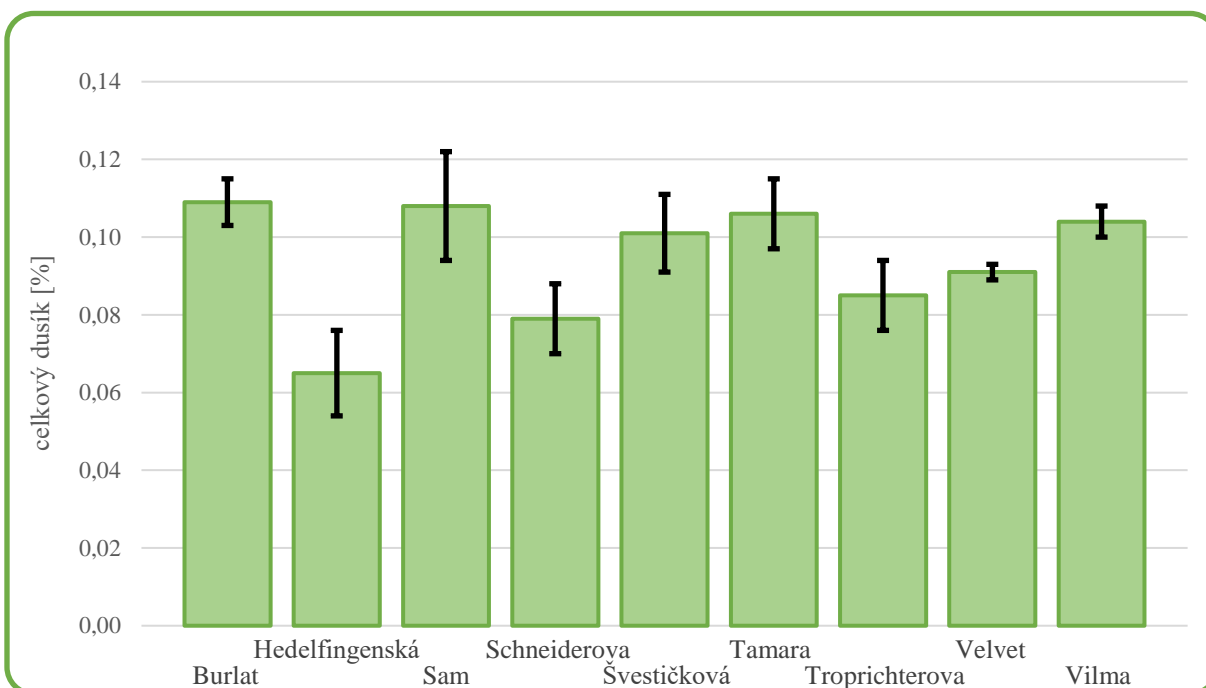
Všechny vzorky byly zpracovány třikrát, byl vypočten průměrný obsah dusíku v jednotlivých odrůdách a přepočten na obsah hrubé bílkoviny. Výsledky ukazuje Tabulka 10 a Graf 5.

Tabulka 10 – Obsah celkového dusíku N_2 a jeho směrodatné odchylky σ a hrubé bílkoviny v jednotlivých odrůdách třešní

Odrůda	Měření	N_2 [%]	N_2 průměr [%]	σ	Hrubá bílkovina průměr [%]
Burlat	1	0,102	0,109	0,006	0,68
	2	0,115			
	3	0,109			

Odrůda	Měření	N ₂ [%]	N ₂ průměr [%]	σ	Hrubá bílkovina průměr [%]
Hedelfingenská	1	0,059	0,065	0,011	0,41
	2	0,058			
	3	0,078			
Sam	1	0,093	0,108	0,014	0,68
	2	0,110			
	3	0,122			
Schneiderova	1	0,071	0,079	0,009	0,50
	2	0,079			
	3	0,088			
Švestičková	1	0,089	0,101	0,010	0,63
	2	0,105			
	3	0,108			
Tamara	1	0,096	0,106	0,009	0,67
	2	0,112			
	3	0,111			
Tropričterova	1	0,088	0,085	0,009	0,53
	2	0,092			
	3	0,075			
Velvet	1	0,091	0,091	0,002	0,57
	2	0,090			
	3	0,093			

Odrůda	Měření	N ₂ [%]	N ₂ průměr [%]	σ	Hrubá bílkovina průměr [%]
Vilma	1	0,107	0,104	0,004	0,65
	2	0,100			
	3	0,106			



Graf 5 – obsah celkového dusíku v jednotlivých odrůdách třešní

Obsah dusíku ve stanovovaných odrůdách třešní se pohybuje v rozmezí od 0,065 % u ‘Hedelfingenské’ do 0,109 % u ‘Burlatu’. Vyjádřeno obsahem hrubé bílkoviny v rozmezí od 0,41 % do 0,68 %. Z grafu je patrné, že obsah dusíku, respektive hrubé bílkoviny je u většiny odrůd téměř stejný.

3.6 Stanovení titrační kyselosti

3.6.1 Princip

Kyselost třešní je způsobena především obsahem různých karboxylových kyselin. Alkalimetricky se stanoví celkový obsah kyselin vyjádřený obsahem kyseliny jablečné, protože se jedná o nejhojněji zastoupenou kyselinu v třešních [59].

3.6.2 Pomůcky a chemikálie

Váhy, pH metr, magnetická míchačka, byreta, pipeta, odměrná baňka.

Hydroxid sodný, hydrát kyseliny šťavelové, kalibrační pufry pro pH metr.

3.6.3 Postup

3.6.3.1 Příprava vzorků

Vzorky byly odstopkovány, vypeckovány a zhomogenizovány. Do 100 ml odměrné baňky bylo odváženo přibližně 30 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 4 desetinná místa a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Takto připravená suspenze byla zfiltrována.

3.6.3.2 Standardizace roztoku hydroxidu sodného

Do 100ml odměrné baňky byl připraven roztok kyseliny šťavelové o koncentraci 0,1 mol/l odvážením a kvantitativním převedením vypočteného množství dihydrátu s přesností na 4 desetinná místa. Tento roztok byl třikrát titrován připraveným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 mol/l na fenolftalein do prvního trvalého růžového zbarvení.

3.6.3.3 Vlastní stanovení

Ze zásobních roztoků vzorků bylo pipetováno 20 ml do malé kádinky, ve které byl roztok za stálého míchání na magnetické míchačce titrován standardním roztokem hydroxidu sodného do pH 8,10 měřeného předem zkalibrovaným pH metrem s přesností na setiny jednotek.

3.6.4 Výpočet

Ze spotřeby standardního roztoku hydroxidu byla vypočtena titrační kyselost vyjádřená obsahem kyseliny jablečné dle vztahu (3.5), kde V_{NaOH} je spotřeba roztoku hydroxidu sodného (l), c_{NaOH} je jeho koncentrace (mol/l), M je molární hmotnost kyseliny jablečné, která činí 134,09 g/mol, F je faktor zředění a m je navážka homogenátu (kg).

$$c = \frac{V_{NaOH} \cdot c_{NaOH} \cdot M \cdot F}{m} [g \text{ kyseliny jablečné} / kg \text{ čerstvé hmotnosti}] \quad (3.5)$$

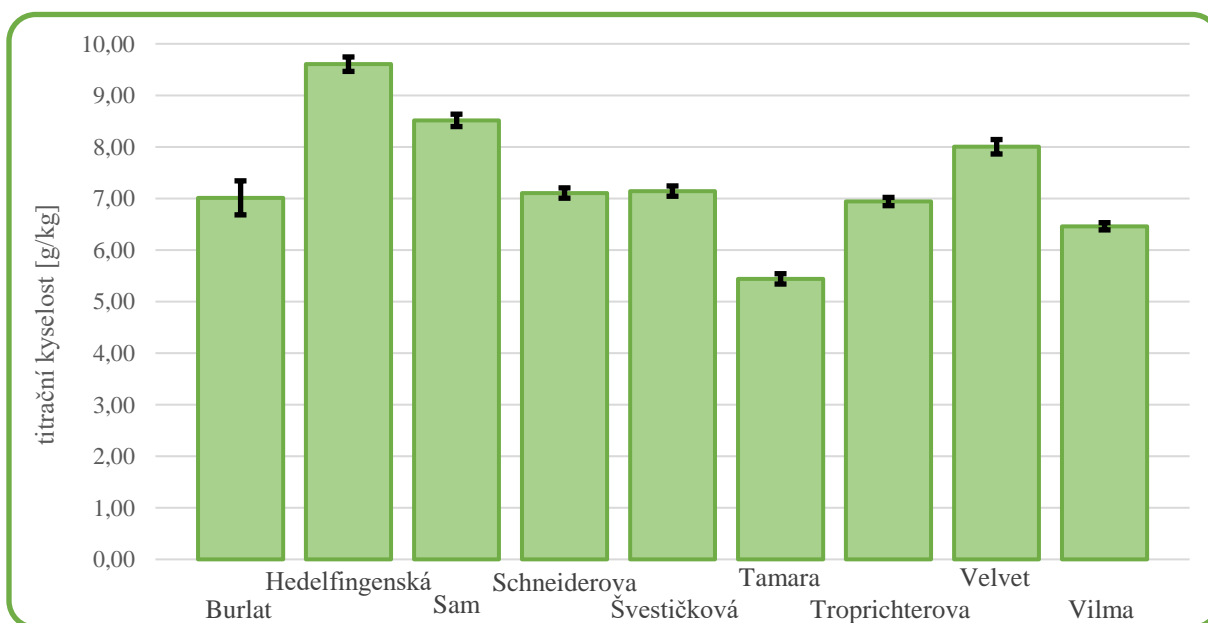
3.6.5 Výsledky

Pro každý vzorek byla provedena tři měření, vypočtena titrační kyselost vyjádřená obsahem kyseliny jablečné pro každé měření, z nich byl vypočten průměr a směrodatná odchylka. Výsledky znázorňuje Tabulka 11 a Graf 6.

Tabulka 11 – titrační kyselost a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní

Odrůda	Měření	Titrační kyselost [g/kg]	Titrační kyselost průměr [g/kg]	σ
Burlat	1	7,12	7,01	0,33
	2	6,64		
	3	7,28		
Hedelfingenská	1	9,44	9,61	0,14
	2	9,69		
	3	9,69		
Sam	1	8,45	8,52	0,12
	2	8,45		
	3	8,66		
Schneiderova	1	7,05	7,11	0,10
	2	7,05		
	3	7,23		
Švestičková	1	7,09	7,14	0,10
	2	7,09		
	3	7,26		

Odrůda	Měření	Titrační kyselost [g/kg]	Titrační kyselost průměr [g/kg]	σ
Tamara	1	5,34	5,44	0,10
	2	5,44		
	3	5,55		
Tropričterova	1	6,85	6,94	0,08
	2	6,99		
	3	6,99		
Velvet	1	7,86	8,00	0,14
	2	8,15		
	3	8,00		
Vilma	1	6,54	6,46	0,07
	2	6,42		
	3	6,42		



Graf 6 – titrační kyselost v jednotlivých odrůdách třešní

Titrační kyselost měřených vzorků se pohybuje od 5,44 g kyseliny jablečné na kg čerstvé hmotnosti u odrůdy ‘Tamara’ do 9,61 g/kg u odrůdy ‘Hedelfingenská’.

3.7 Stanovení formolového čísla

3.7.1 Princip

Po alkalimetrickém vytitrování kyselin je ke vzorku přidán formaldehyd, který z každé molekuly aminokyseliny uvolní jeden proton. Následně je vzorek potenciometricky titrován roztokem hydroxidu sodného do pH 8,1 a ze spotřeby je vypočteno formolové číslo, které vyjadřuje míru obsahu aminokyselin ve vzorku a je vyjádřeno jako ml hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l na titraci 100 g vzorku [59].

3.7.2 Pomůcky a chemikálie

Váhy, pH metr, magnetická míchačka, byreta, pipeta, odměrná baňka, odměrný válec.

Hydroxid sodný, dihydrát kyseliny šťavelové, formaldehyd (350 g/l), kalibrační pufr pro pH metr.

3.7.3 Postup

3.7.3.1 Příprava vzorků

Vzorky byly odstopkovány, vypeckovány a zhomogenizovány. Do 100ml odměrné baňky bylo odváženo přibližně 30 g zhomogenizovaného vzorku s přesností na 4 desetinná místa a baňka byla doplněna destilovanou vodou po rysku. Takto připravená suspenze byla zfiltrována.

3.7.3.2 Standardizace roztoku hydroxidu sodného

Do 100ml odměrné baňky byl připraven roztok kyseliny šťavelové o koncentraci 0,1 mol/l odvážením a kvantitativním převedením vypočteného množství dihydrátu s přesností na 4 desetinná místa. Tento roztok byl třikrát titrován připraveným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 mol/l na fenolftalein do prvního trvalého růžového zbarvení.

3.7.3.3 Vlastní stanovení

Ze zásobních roztoků vzorků bylo pipetováno 20 ml do malé kádinky, ve které byl roztok za stálého míchání na magnetické míchačce titrován standardním roztokem hydroxidu sodného do pH 8,10 měřeného předem zkalibrovaným pH metrem s přesností na setiny jednotek. Poté bylo ke vzorku přidáno 10 ml roztoku formaldehydu o koncentraci 350 g/l a po jedné minutě byl vzorek dotitrován opět do pH 8,10. Tato spotřeba roztoku hydroxidu sodného nutného k dosažení pH 8,10 po přidání formaldehydu byla použita k výpočtu formolového čísla.

3.7.4 Výpočet

Ze spotřeby standardního roztoku hydroxidu sodného po přidání formaldehydu bylo vypočteno formolové číslo podle vztahu (3.6), kde $f_{\check{c}}$ je formolové číslo (ml/100 g), V_{NaOH} spotřeba odměrného roztoku hydroxidu sodného (ml), c_{NaOH} jeho koncentrace (mol/l), V_c je celkový objem vzorku (100 ml), V_{vz} objem titrovaného vzorku (20 ml), m je navážka homogenátu a $c_{0,1M NaOH}$ je koncentrace 0,1 mol/l hydroxidu sodného.

$$f_{\check{c}} = \frac{100 \cdot V_{NaOH} \cdot V_c \cdot c_{NaOH}}{V_{vz} \cdot m \cdot c_{0,1M NaOH}} [ml\ 0,1M\ NaOH/100g] \quad (3.6)$$

3.7.5 Výsledky

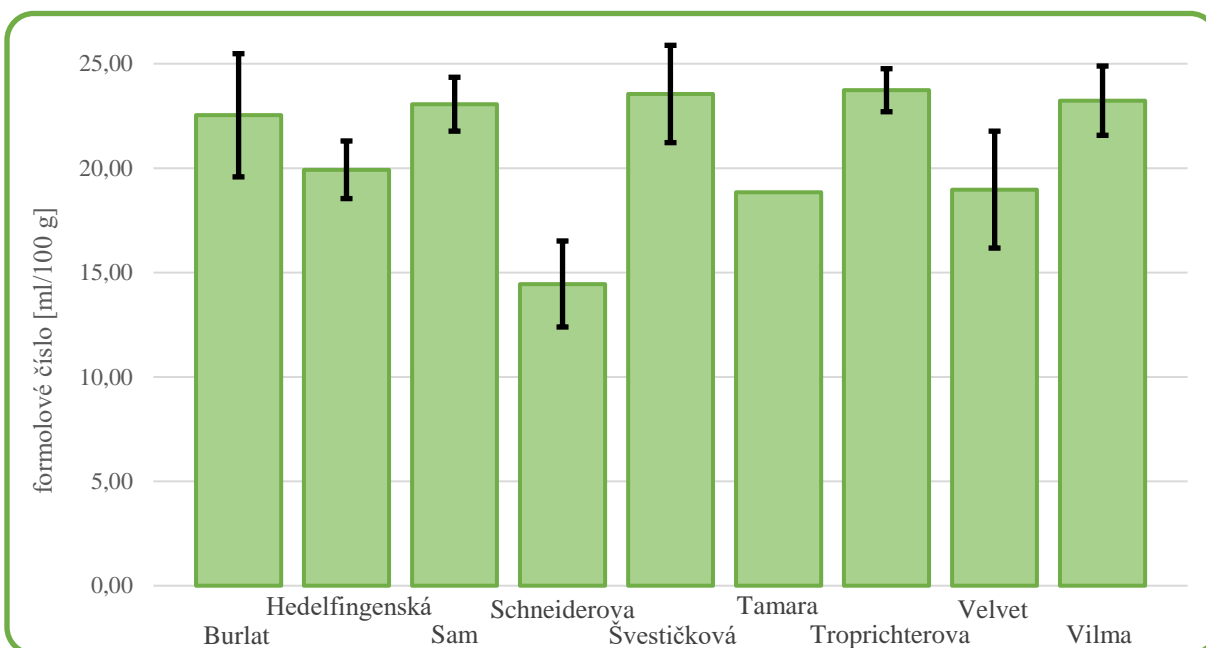
Tabulka 12 a Graf 7 ukazuje vypočtená formolová čísla pro tři měření provedená u každé odrůdy, jejich průměr a směrodatné odchylky, kromě odrůdy ‘Tamara’, u které je směrodatná odchylka rovna nule.

Tabulka 12 – formolové číslo a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní

Odrůda	Měření	Formolové číslo [ml/100 g]	Formolové číslo průměr [ml/100 g]	σ
Burlat	1	25,11	22,53	2,95
	2	23,18		
	3	19,31		

Odrůda	Měření	Formolové číslo [ml/100 g]	Formolové číslo průměr [ml/100 g]	σ
Hedelfingenská	1	19,12	19,92	1,38
	2	21,51		
	3	19,12		
Sam	1	22,31	23,06	1,29
	2	24,55		
	3	22,31		
Schneiderova	1	14,45	14,45	2,06
	2	16,51		
	3	12,39		
Švestičková	1	22,21	23,55	2,33
	2	26,25		
	3	22,21		
Tamara	1	18,85	18,85	0,00
	2	18,85		
	3	18,85		
Tropichterova	1	24,92	23,73	1,03
	2	23,14		
	3	23,14		
Velvet	1	22,03	18,97	2,80
	2	16,52		
	3	18,36		

Odrůda	Měření	Formolové číslo [ml/100 g]	Formolové číslo průměr [ml/100 g]	σ
Vilma	1	21,57	23,23	1,66
	2	23,23		
	3	24,89		



Graf 7 – formolové číslo v jednotlivých odrůdách třešní

Nejnižší formolové číslo bylo zjištěno u odrůdy ‘Schneiderova’ a to 14,45 ml/100 g. Nejvyšší bylo naměřeno 23,73 ml/100 g u odrůdy ‘Troprichterova’.

3.8 Stanovení popela

3.8.1 Princip

Nejprve se připraví sušina z homogenátu. Navážka sušiny se spálí na vařiči a vyžihá v elektrické peci při 800 °C a vzniklý popel se zváží. Z hmotnosti navážky a popela se vypočte jeho obsah v čerstvé hmotnosti [59].

3.8.2 Pomůcky a chemikálie

Muflová pec, sušárna, elektrický vařič, keramické žíhací kelímky, hliníkové misky.

3.8.3 Postup

Byla připravena sušina dle postupu uvedeného v 3.4.3. Přibližně 0,5 g sušiny s přesností na 4 desetinná místa bylo odváženo do předem vyžíhaného a zváženého keramického kelímku. Navážka byla spálena na elektrickém vařiči v digestoři a následně vyžihána v muflové peci při 800 °C po dobu 3 hodin. Po vychladnutí v exsikátoru byl kelímek s popelem zvážen.

3.8.4 Výpočet

Obsah popela byl vypočten dle vztahu (3.7) z rozdílu hmotnosti popela m_p (g) a navážky sušiny m_s (g). Hmotnostní zlomek sušiny v čerstvém ovoci vyjadřuje w_s .

$$\% \text{ popela} = \frac{100 \cdot w_s \cdot m_p}{m_s} [\% \text{ v čerstvé hmotnosti}] \quad (3.7)$$

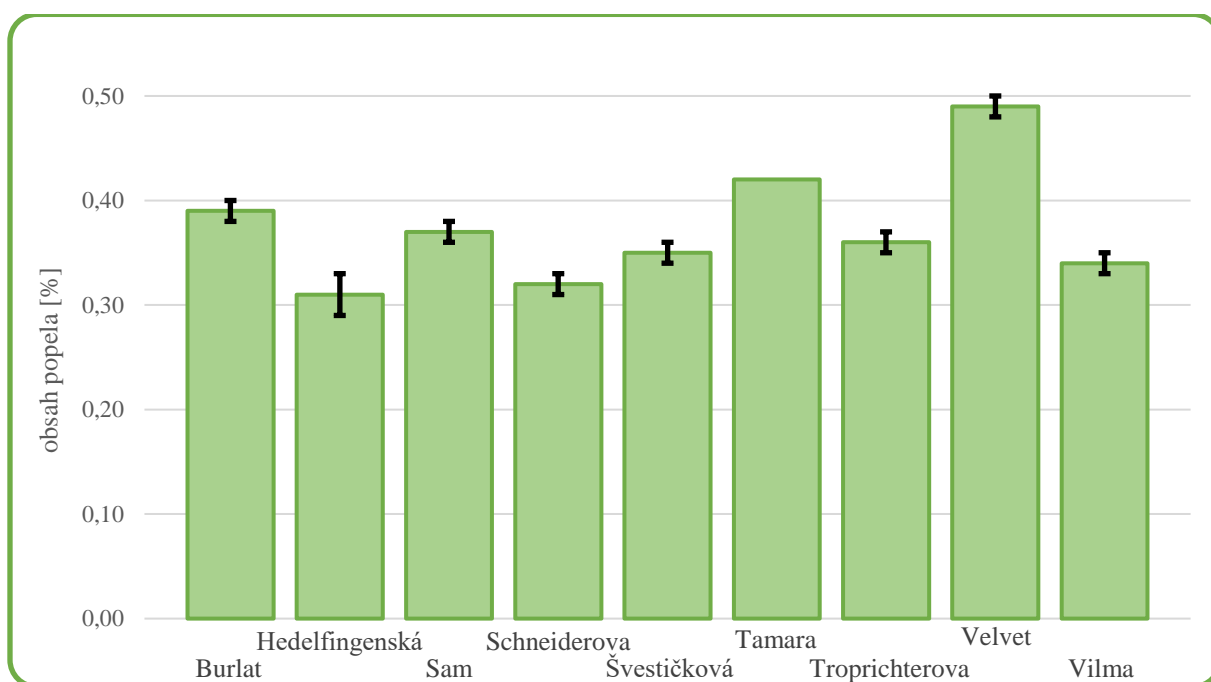
3.8.5 Výsledky

Každý vzorek byl zpracován třikrát a byl vypočten průměrný obsah popela v čerstvé hmotnosti jednotlivých odrůd. Výsledky ukazuje Tabulka 13 a Graf 8.

Tabulka 13 – obsah popela a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní

Odrůda	Měření	Obsah popela [%]	Obsah popela průměr [%]	σ
Burlat	1	0,38	0,39	0,01
	2	0,40		
	3	0,39		
Hedelfingenská	1	0,33	0,31	0,02
	2	0,30		
	3	0,29		
Sam	1	0,37	0,37	0,01
	2	0,37		
	3	0,37		

Odrůda	Měření	Obsah popela [%]	Obsah popela průměr [%]	σ
Schneiderova	1	0,32	0,32	0,01
	2	0,32		
	3	0,31		
Švestičková	1	0,36	0,35	0,01
	2	0,35		
	3	0,35		
Tamara	1	0,42	0,42	0,00
	2	0,42		
	3	0,41		
Tropichterova	1	0,35	0,36	0,01
	2	0,36		
	3	0,35		
Velvet	1	0,49	0,49	0,01
	2	0,50		
	3	0,49		
Vilma	1	0,35	0,34	0,01
	2	0,33		
	3	0,34		



Graf 8 – obsah popela v jednotlivých odrůdách

Obsah popela je napříč odrůdami poměrně konstantní a pohybují se v rozmezí 0,31 % u odrůdy ‘Hedelfingenská’ až 0,49 % u odrůdy ‘Velvet’.

3.9 Stanovení obsahu sacharidů

3.9.1 Princip

Sacharidy jsou ze vzorku extrahovány 40% roztokem etanolu. Stanovuje se koncentrace dvou nejzastoupenějších sacharidů fruktózy a glukózy metodou kapalinové chromatografie s ELSD detektorem. Koncentrace jednotlivých sacharidů ve vzorku se vypočte z kalibrační křivky podle plochy pod píkem či podle jeho výšky.

3.9.2 Pomůcky a chemikálie

Kapalinový chromatograf HPLC – Agilent Technologies 1260 Infinity s detektorem ELSD – Agilent Technologies 1260 Infinity, kolona Prevail Carbohydrate ES 5u, délka 250 mm, vnitřní průměr 4,6 mm; třepačka, Erlenmeyerovy baňky, vialky, odměrná baňka, centrifuga, MCE mikrofiltry, stříkačky.

Etanol pro HPLC, voda pro HPLC, acetonitril pro HPLC, standardy sacharidů.

3.9.3 Postup

3.9.3.1 Příprava vzorku

Do 500ml odměrné baňky byl připraven zásobní roztok smícháním 200 ml etanolu pro HPLC a doplněním vodou pro HPLC. Do 50ml Erlenmeyerových baněk byl odvážen 1 g vypeckovaných, odstopkovaných a zhomogenizovaných třešní s přesností na 4 desetinná místa. Ke vzorku bylo pipetováno 10 ml zásobního roztoku a byl ponechán 30 min na třepačce extrahovat. Poté byly vzorky zcentrifugovány a zfiltrány pomocí stříkačky mikrofiltrem. Do 2ml vialek bylo pipetováno 50 µl filtrátu a 950 µl zásobního roztoku.

3.9.3.2 Příprava kalibračních roztoků

Do 250ml odměrné baňky bylo naváženo přesně 0,25 g fruktózy a 0,25 g glukózy, čímž byl připraven zásobní kalibrační roztok o koncentraci 1 g/l každé látky. Do čtyř vialek byl následně zásobní roztok rozředěn na koncentrace 100, 200, 300 a 500 mg/l.

3.9.3.3 Vlastní měření

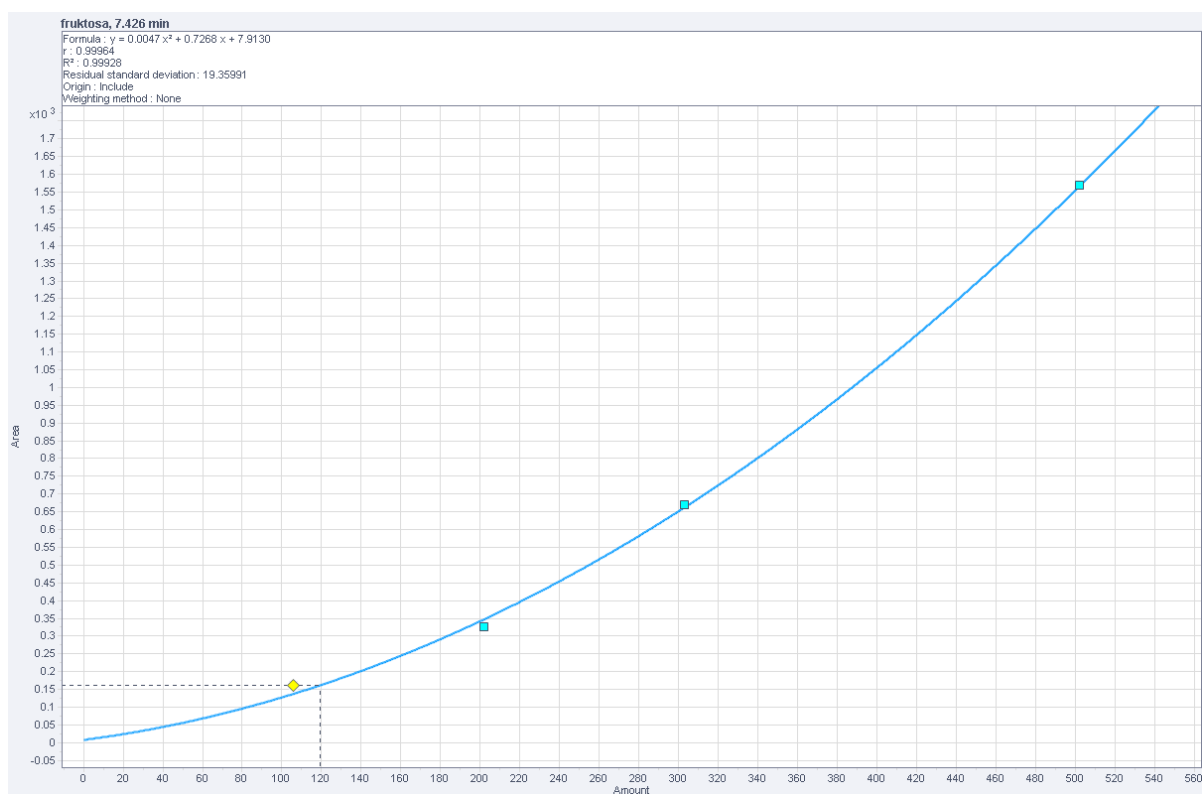
Připravené vialky s kalibračními roztoky a se vzorky byly vloženy do zásobníku v HPLC systému. Autosamplerem bylo dávkováno 5 µl z každé vialky. Jako mobilní fáze byla použita směs acetonitril:voda v objemovém poměru 75:25 s izokratickou elucí a průtokem 1 ml/min. Teplota kolony byla nastavena na 35 °C, zmlžovací teplota v detektoru 85 °C a vypařovací teplota 90 °C. Jako zmlžovací plyn byl použit dusík s průtokem 1,3 ml/min.

3.9.4 Výpočet

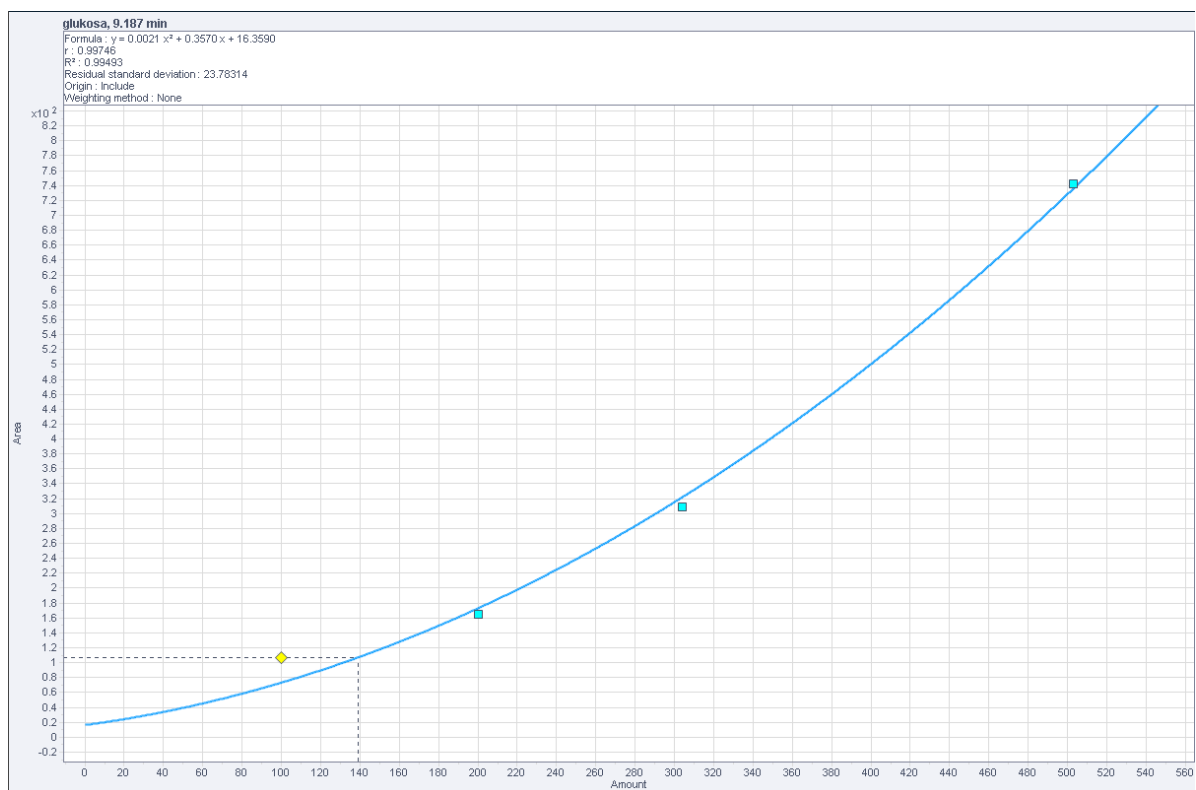
Pro výpočty koncentrací jednotlivých sacharidů byly použity rovnice kalibračních křivek daných standardů (Obrázek 12 a Obrázek 13) a vypočteny podle vztahů (3.8) a (3.9), kde F je faktor zředění vypočtený dle vztahu (3.10), m je navážka (g) a S je plocha pod píkem.

$$c = \frac{F}{1000} \cdot \frac{-0,7268 + \sqrt{0,0188 \cdot S + 0,37947384}}{0,0094} [g \text{ fruktózy} / kg] \quad (3.8)$$

$$c = \frac{F}{1000} \cdot \frac{-0,357 + \sqrt{0,0084 \cdot S - 0,0099666}}{0,0042} [g \text{ glukózy} / kg] \quad (3.9)$$



Obrázek 12 – kalibrační křivka pro stanovení fruktózy



Obrázek 13 – kalibrační křivka pro stanovení glukózy

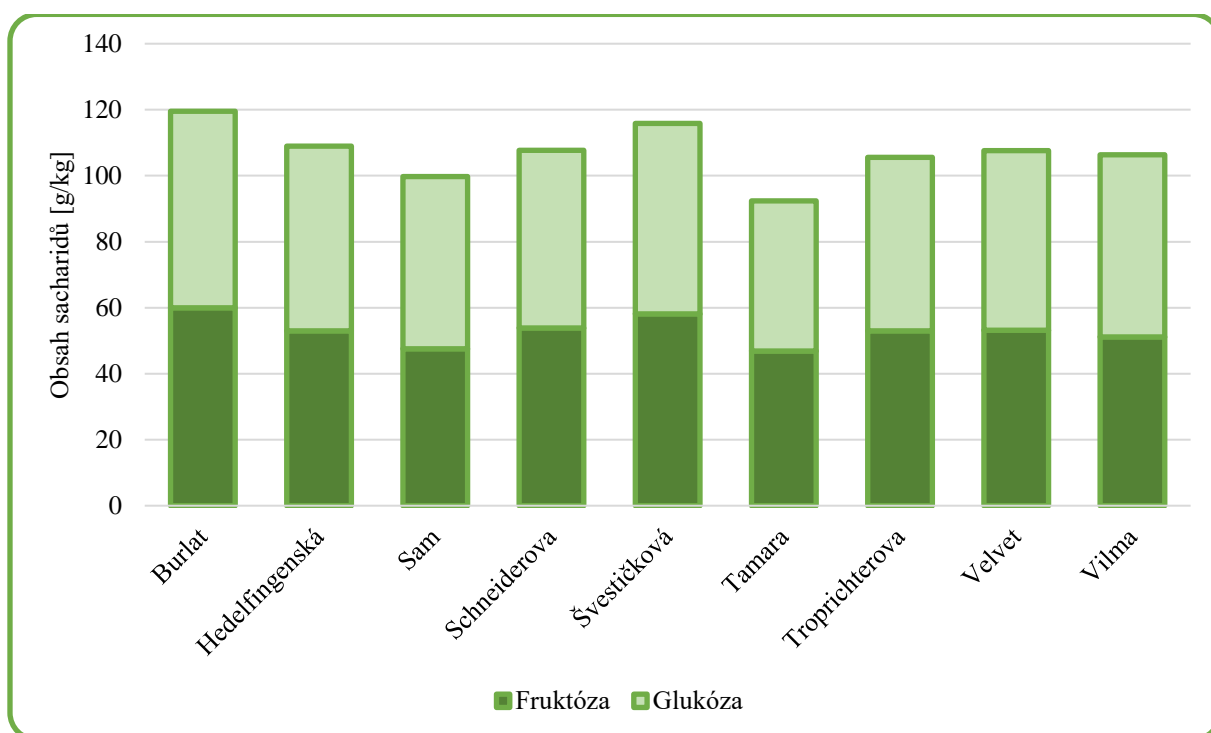
$$F = 20 \cdot \frac{10 + m}{m} \quad (3.10)$$

3.9.5 Výsledky

Vzhledem k velkému množství dat jsou v Tabulka 14 uvedeny pouze průměrné obsahy fruktózy a glukózy a celkový obsah těchto dvou majoritně zastoupených sacharidů vypočten součtem jejich obsahů. Pro lepší představu o poměrném zastoupení jednotlivých sacharidů byl vytvořen skládaný sloupcový Graf 9. Je zde také vložen chromatogram standardů (Obrázek 14) a ukázkový chromatogram vlastního měření vzorků (Obrázek 15).

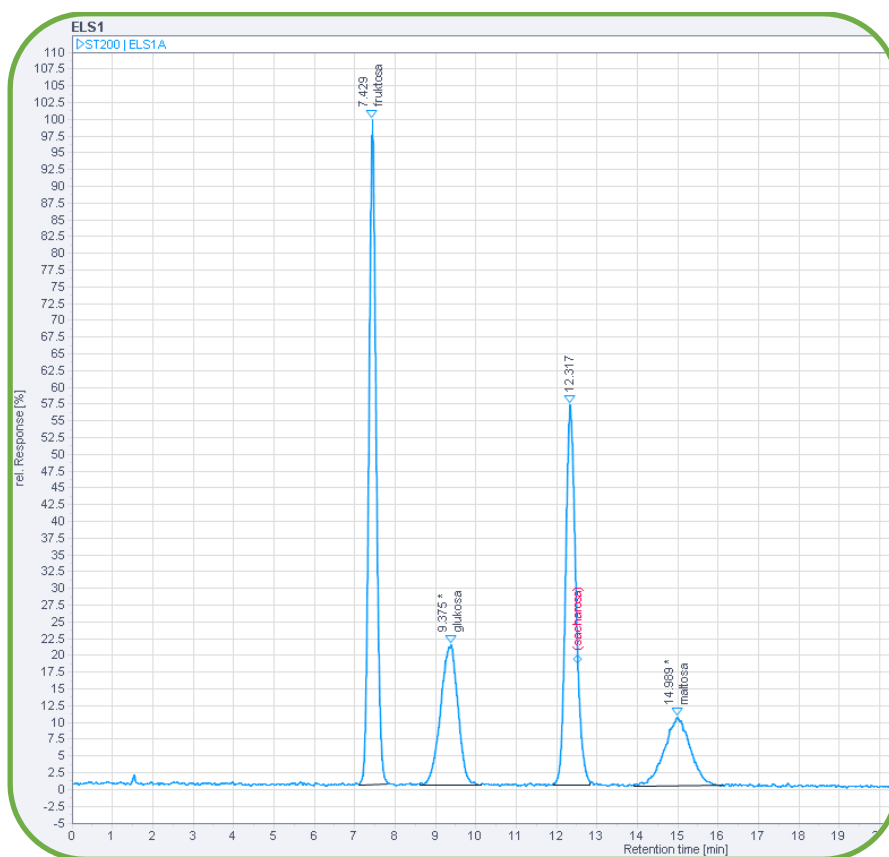
Tabulka 14 – Průměrný obsah jednotlivých sacharidů a jejich celkový obsah v 1 kg čerstvé hmotnosti

Odrůda	Obsah fruktózy [g/kg]	Obsah glukózy [g/kg]	Sacharidy celkem [g/kg]
Burlat	60,01 ± 2,54	59,49 ± 2,64	119,50 ± 5,18
Hedelfingenská	52,97 ± 1,94	55,96 ± 2,46	108,93 ± 4,41
Sam	47,57 ± 0,30	52,17 ± 0,31	99,74 ± 0,62
Schneiderova	53,86 ± 2,98	53,83 ± 3,36	107,68 ± 6,35
Švestičková	58,10 ± 1,57	57,79 ± 2,77	115,90 ± 4,33
Tamara	46,88 ± 0,85	45,45 ± 1,08	92,34 ± 1,94
Tropriřterova	52,96 ± 1,00	52,59 ± 1,17	105,55 ± 2,17
Velvet	53,21 ± 0,73	54,43 ± 0,71	107,64 ± 1,43
Vilma	51,11 ± 0,43	55,27 ± 0,65	106,38 ± 1,08

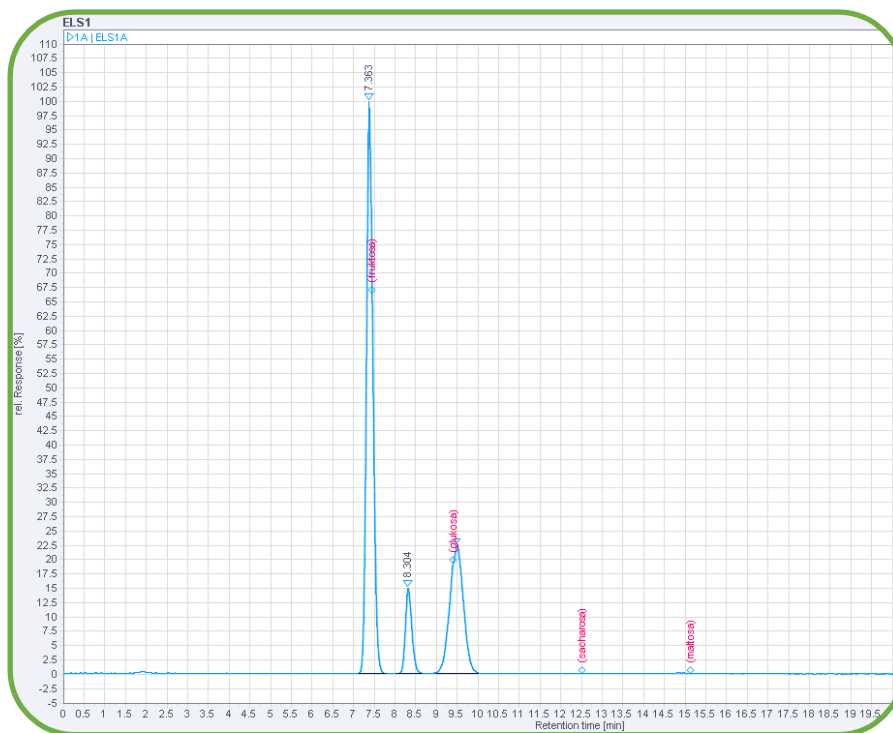


Graf 9 – obsah sacharidů v jednotlivých odrůdách

Na chromatogramech vzorků byly detekovány tři píky, z nichž první odpovídá retenčním indexem fruktóze a třetí glukóze. Prostřední pík nebyl identifikován, ale podle sacharidového profilu třešní lze předpokládat, že se jedná o sorbitol. Ten však z důvodu chybějícího standardu nebyl potvrzen, a tedy ani kvantifikován. Sacharóza jako další cukr vyskytující se v třešních nebyla detekována, byla pravděpodobně hydrolyzována enzymem invertázou na glukózu a fruktózu. Obsah fruktózy byl stanoven v rozmezí 46,88–60,01 g/kg a glukózy 45,45–59,49 g/kg čerstvé hmotnosti. Celkový obsah těchto dvou sacharidů je tedy 92,34–119,50 g/kg čerstvé hmotnosti. Ve všech případech byl nejnižší obsah u odrůdy ‘Tamara’ a nejvyšší u odrůdy ‘Burlat’.



Obrázek 14 – ukázka chromatogramu měření standardů



Obrázek 15 – ukázka chromatogramu stanovení sacharidů

3.10 Stanovení celkového obsahu antokyanů

3.10.1 Princip

Antokyany byly stanoveny pH diferenciální metodou, která spočívá v rozdílné absorbanci roztoku antokyanů, z důvodu změny struktury v pufrch o různém pH. Antokyany při nízkém pH tvoří flavyliové kationty které se při pH 4,5 mění na hemiketalovou formu [59].

3.10.2 Pomůcky a chemikálie

Spektrofotometr Helios γ , kyvety, odměrné baňky, centrifuga, MCE mikrofiltry, stříkačky.

Chlorid draselný, kyselina chlorovodíková, octan sodný.

3.10.3 Postup

3.10.3.1 Příprava pufrů

Byl připraven roztok chloridu draselného o koncentraci 0,025 mol a jeho pH bylo upraveno na 1,0 přidáním koncentrované kyseliny chlorovodíkové a roztok octanu sodného o koncentraci 0,4 mol/l jehož pH bylo taktéž koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou upraveno na 4,5.

3.10.3.2 Příprava vzorků

Vzorky byly vypeckovány, odstopkovány a zhomogenizovány. Tento homogenát byl navážen po přibližně 5g s přesností na 4 desetinná místa do dvou 50ml odměrných baněk. Jedna odměrná banka byla doplněna pufrém o pH 1, druhá banka pufrém o pH 4,5. Po patnáctiminutové inkubaci byly vzorky zcentrifugovány a zfiltrány pomocí stříkačky mikrofiltrem.

3.10.3.3 Vlastní měření

Byla změřena absorbance vzniklých filtrátů při vlnových délkách 510 nm a 700 nm proti blanku, kterým byla destilovaná voda. Vzorky jejichž absorbance byla příliš vysoká byly zředěny v přesně známém poměru.

3.10.4 Výpočet

Z naměřených hodnot absorbancí při dvou vlnových délkách a ve dvou pufrch o rozdílném pH byla vypočtena celková absorbance dle vztahu (3.11), kde A_{510} je naměřená absorbance při

vlnové délce 510 nm, A_{700} je absorpance při vlnové délce 700 nm a indexy $pH=1$ a $pH=4,5$ označují hodnotu pH pufru, ve kterém bylo měření absorpance prováděno.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH=1} - (A_{510} - A_{700})_{pH=4,5} \quad (3.11)$$

Celkový obsah antokyanů byl vyjádřen obsahem kyanidin-3-rutinosidu a kyanidin-3-glukosidu a vypočten dle vztahu (3.12), kde c je koncentrace daného antokyanu (mg/kg), V je objem, do kterého byl vzorek převeden (0,05 l), A je celková absorpance, M je molární hmotnost kyanidin-3-rutinosidu (595,5 g/mol) resp. kyanidin-3-glukosidu (449,2 g/mol), ε je molární absorpční koeficient kyanidin-3-rutinosidu (7 000 l/cm·mol) resp. kyanidin-3-glukosidu (26 900 l/cm·mol) a m je navážka vzorku [62].

$$c = \frac{1000 \cdot V \cdot A \cdot M}{\varepsilon \cdot m} [mg / kg \text{ čerstvé hmotnosti}] \quad (3.12)$$

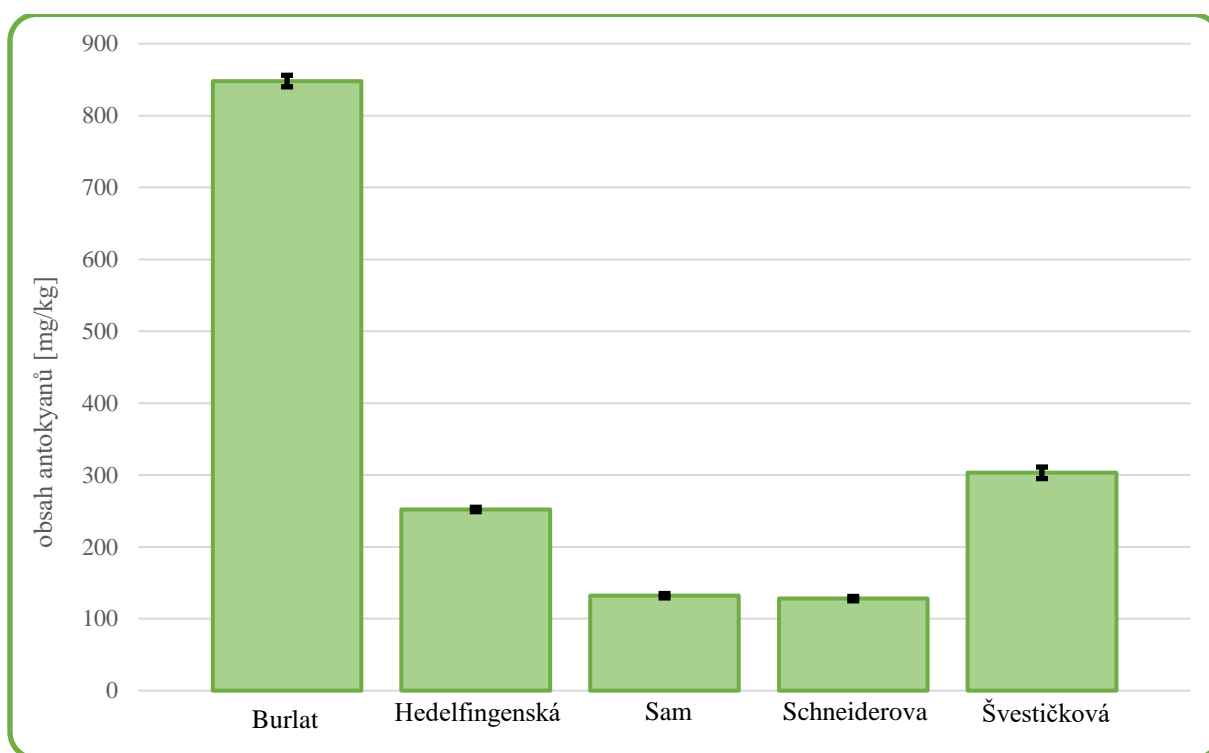
3.10.5 Výsledky

Pro každý vzorek byla provedena tři měření. Koncentrace je vyjádřena v mg kyanidin-3-rutinosidu a v mg kyanidin-3-glukosidu na kg čerstvých třešní, pro oba případy je uveden průměr a směrodatná odchylka σ .

Tabulka 15 – koncentrace antokyanů a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní

Odrůda	Č.	Kyanidin-3-rutinosid [mg/kg]	Průměr [mg/kg]	σ	Kyanidin-3-glukosid [mg/kg]	Průměr [mg/kg]	σ
Burlat	1	4360	4322	39	856	848	8
	2	4324			849		
	3	4282			841		

Odrůda	Č.	Kyanidin- 3-rutinosid [mg/kg]	Průměr [mg/kg]	σ	Kyanidin- 3-glukosid [mg/kg]	Průměr [mg/kg]	σ
Hedelfingenská	1	1295	1281	14	254	252	3
	2	1267			249		
	3	1281			251		
Sam	1	653	671	16	128	132	3
	2	682			134		
	3	679			133		
Schneiderova	1	643	655	16	126	128	3
	2	672			132		
	3	648			127		
Švestičková	1	1515	1542	40	297	303	8
	2	1589			312		
	3	1523			299		



Graf 10 – celkový obsah antokyanů vyjádřený koncentrací kyanidin-3-glukosidu

Graf 10 znázorňuje obsah celkových antokyanů vyjádřených kyanidin-3-glukosidem v rozmezí 128 mg/kg čerstvé hmotnosti u odrůdy ‘Schneiderova’ až 848 mg/kg u odrůdy ‘Burlat’, u které je i vizuálně patrná výrazně tmavší barva než u ostatních odrůd. Kyanidin-3-glukosid se v literatuře používá nejčastěji k vyjádření celkového obsahu antokyanů, není-li prováděna jejich separace a analýza jednotlivě. Tabulka 15 uvádí obsah vyjádřený i kyanidin-3-rutinosidem, z důvodu snazší porovnatelnosti s dalšími odrůdami měřeními v rámci spolupráce s Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousech v jiných závěrečných pracích [63][64]. Analyzováno bylo pouze pět odrůd, z důvodu závady na mrazícím zařízení a znehodnocení zbytku vzorků.

4 DISKUZE

Tabulka 16 a Tabulka 17 shrnuje všechny naměřené výsledky. Uvedeny jsou průměrné hodnoty vypočtené vždy ze tří provedených měření. Obsah fenolických látek je vyjádřen obsahem kyseliny gallové, titrační kyselost obsahem kyseliny jablečné a obsah antokyanů je vyjádřen obsahem kyanidin-3-glukosidu. Data obsahu antokyanů u posledních čtyř odrůd chybí z důvodu znehodnocení vzorků v průběhu zpracování vlivem závady na mrazícím boxu, ve kterém byly vzorky uchovávány. Obsah sacharidů je součtem obsahu glukózy a fruktózy.

Tabulka 16 – Shrnutí průměrných hodnot všech měřených parametrů 1. část

Odrůda	Fenolické látky [g/kg]	Rozpustná sušina [°Brix]	Celková sušina [%]	Hrubá bílkovina [%]	Titrační kyselost [g/kg]
Burlat	0,89 ± 0,04	18,08 ± 0,14	15,94 ± 0,64	0,68 ± 0,04	7,01 ± 0,33
Hedelfingenská	0,67 ± 0,02	18,00 ± 0,00	16,58 ± 0,11	0,41 ± 0,07	9,61 ± 0,14
Sam	0,53 ± 0,01	15,42 ± 0,14	14,73 ± 1,60	0,68 ± 0,09	8,52 ± 0,12
Schneiderova	0,32 ± 0,02	18,50 ± 0,00	15,32 ± 1,52	0,50 ± 0,05	7,11 ± 0,10
Švestičková	0,60 ± 0,04	19,50 ± 0,25	16,43 ± 1,09	0,63 ± 0,06	7,14 ± 0,10
Tamara	0,30 ± 0,01	14,83 ± 0,14	13,07 ± 0,67	0,67 ± 0,06	5,44 ± 0,10
Tropichterova	0,69 ± 0,02	15,78 ± 0,06	13,97 ± 0,95	0,53 ± 0,06	6,94 ± 0,08
Velvet	0,45 ± 0,02	17,83 ± 0,14	16,58 ± 0,66	0,57 ± 0,01	8,00 ± 0,14
Vilma	0,59 ± 0,01	14,67 ± 0,14	14,69 ± 0,86	0,65 ± 0,02	6,46 ± 0,07

Tabulka 17 – Shrnutí průměrných hodnot všech měřených parametrů 2. část

Odrůda	Formolové číslo [ml/100 g]	Popel [%]	Sacharidy [g/kg]	Antokyany [mg/kg]
Burlat	22,53 ± 2,95	0,39 ± 0,01	119,50 ± 5,18	848 ± 8
Hedelfingenská	19,92 ± 1,38	0,31 ± 0,02	108,93 ± 4,41	252 ± 3
Sam	23,06 ± 1,29	0,37 ± 0,01	99,74 ± 0,62	132 ± 3
Schneiderova	14,45 ± 2,06	0,32 ± 0,01	107,68 ± 6,35	128 ± 3
Švestičková	23,55 ± 2,33	0,35 ± 0,01	115,90 ± 4,33	303 ± 8
Tamara	18,85 ± 0,00	0,42 ± 0,00	92,34 ± 1,94	-
Tropřichterova	23,73 ± 1,03	0,36 ± 0,01	105,55 ± 2,17	-
Velvet	18,97 ± 2,80	0,49 ± 0,01	107,64 ± 1,43	-
Vilma	23,23 ± 1,66	0,34 ± 0,01	106,38 ± 1,08	-

Všechny uvedené parametry byly porovnány s bakalářskou prací Boberové [63], která uvádí stejné parametry u odrůd ‘Karešova’, Napoleonova a Stark Gold a její výsledky se kromě fenolických látek překrývají s výsledky v této diplomové práci. Obsah antokyanů u odrůd Napoleonova a Stark Gold nemá smysl se zde použitými odrůdami porovnávat, protože se jedná o velmi světlé odrůdy. Obsah fenolických látek Boberové vychází v rozmezí 0,91–1,47 g/kg a v této práci 0,30–0,89 g/kg. Obsah fenolických látek byl porovnán též se studií Oancea [65], která uvádí 1,14–2,76 g/kg a u odrůdy ‘Burlat’ také se studií Usenik [24], která naměřila $0,84 \pm 0,04$ g/kg a Gonçalves [12], jež uvádí $1,19 \pm 0,7$ resp. $1,41 \pm 2,0$ g/kg při analýze v den sklizně ve dvou po sobě jdoucích letech. Hodnota naměřená v této práci je $0,89 \pm 0,04$ g/kg, s některými studiemi se tedy blíže shoduje od jiných se liší o desítky procent. Z výše

uvedených výsledků studie Gonçalves je patrné, že nezanedbatelný vliv mají kromě doby a způsobu skladování i klimatické podmínky konkrétního roku, kdy byly vzorky sklizeny.

Obsah rozpustné sušiny pro odrůdu 'Burlat' Gonçalves [12] uvádí $13,4 \pm 0,1$ resp. $16,3 \pm 2,1$ °Brix, mezitím co zde vychází $18,08 \pm 0,14$ °Brix. Celková sušina pro jiné odrůdy vychází Boberové 14,53–18,15 % a Oancea 17,58–29,07 %, zde v rozmezí 13,07–16,58 %, tedy jen o málo méně, což mohlo být způsobeno přesušením vzorků a jejich částečnou oxidací.

Titrační kyselost Bernalte [66] uvádí pro dvě jiné odrůdy 5,8 a 5 g/kg, Boberová 6,15–8,86 g/kg což je srovnatelné se zde naměřenými hodnotami 5,44–9,61 g kyseliny jablečné v 1 kg. Formolové číslo v této práci vyšlo 14,45–23,73 ml 0,1 M NaOH ve 100 g třešní, Boberová uvádí 19,4–29,7 ml/100 g.

Obsah popela v třešních je podle Centra pro databázi složení potravin 0,5 % [13]. Boberová uvádí 0,34–0,44 %, a zde vyšlo 0,31–0,39 % v čerstvé hmotnosti.

Obsah hrubé bílkoviny zde byl stanoven na 0,41–0,68 %, tedy méně než 0,9 % jak uvádí Centrum pro databázi složení potravin, avšak ve stejném rozmezí jako Boberová 0,35–0,72 % v čerstvé hmotnosti.

Usenik [67] uvádí v odrůdě Lapins na různých podnožích celkový obsah cukrů v rozmezí 102,13–251,56 g/kg, glukózy 50,97–159,87 g/kg, fruktózy 41,65–69,88 g/kg, sorbitolu 7,66–21,29 g/kg a sacharózy 7,74–7,78 g/kg čerstvé hmotnosti. V této práci byl obsah glukózy stanoven v rozmezí 45,45–59,49 g/kg a fruktózy 46,88–60,01 g/kg čerstvé hmotnosti. Sacharóza nebyla detekována a sorbitol nebyl z důvodu chybějícího standardu identifikován ani kvantifikován. Celkový obsah dvou majoritních cukrů glukózy a fruktózy byl 92,34–119,50 g/kg.

Obsah antokyanů velmi významně závisí na konkrétní odrůdě, zralosti, způsobu a době skladování i klimatických podmínkách a jejich obsah se může mnohonásobně lišit. Jakékoliv porovnání je tedy velmi problematické. Např. Gonçalves [12] uvádí pro odrůdu 'Burlat' hodnotu 446,7 mg/kg pro rok 2001 a 956,8 mg/kg pro rok 2002, obě vypěstované v Portugalsku. V této diplomové práci vychází 848 mg/kg, což lze považovat za uspokojivě shodný výsledek.

Doba a teplota skladování má největší vliv na obsah antokyanů a polyfenolických látek. Při 6měsíčním skladování v -18 °C byl u některých odrůd třešní sledován pokles obsahu polyfenolických látek o 50 % a antokyanů dokonce o 87 % [65]. Nebyl však sledován vliv doby skladování při -70 °C, dá se ale předpokládat, že při takto nízké teplotě bude degradace značně potlačena. Další studie navíc zjistila markantní nárůst obsahu antokyanů skladováním při 15 ± 5 °C a mírný nárůst při 1–2 °C, dále poukazuje na významný vliv klimatických podmínek na obsah polyfenolických látek [12].

5 ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce byla chemická charakteristika devíti vybraných odrůd třešní, které byly podrobeny analýze devíti parametrů běžně sledovaných u ovocných plodů. Třešně byly dodány Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským v Holovousech.

V teoretické části byla popsána botanická charakteristika a pěstování třešně ptačí (*Prunus avium* L.) její nejčastější onemocnění a využití plodů v potravinářství. Další část byla věnována obsahu účinných látek v plodech třešně a popisu analyzovaných odrůd. Z instrumentálních metod byla k analýze vybraných parametrů použita vysokoúčinná kapalinová chromatografie, molekulová absorpční spektrofotometrie v UV/VIS oblasti a potenciometrická titrace.

Pomocí HPLC byla stanovena koncentrace fruktózy v rozmezí 46,88–60,01 g/kg a glukózy 45,45–59,49 g/kg čerstvé hmotnosti. Celkový obsah těchto dvou sacharidů je tedy 92,34–119,50 g/kg čerstvé hmotnosti. Ve všech případech byl nejnižší obsah u odrůdy ‘Tamara’ a nejvyšší u odrůdy ‘Burlat’.

Spektrofotometricky byl stanoven celkový obsah fenolických látek metodou s Folin-Ciocalteuovým činidlem v rozmezí 0,30 g kyseliny Gallové v 1 kg třešní v odrůdě ‘Tamara’ až 0,89 g/kg v odrůdě ‘Burlat’ a celkový obsah antokyanů pH diferenciální metodou v rozmezí 128 mg kyanidin-3-glukosidu v 1 kg u odrůdy ‘Schneiderova’ až 848 mg/kg u odrůdy ‘Burlat’.

Obsah hrubé bílkoviny byl vypočten z obsahu dusíku stanoveného Kjeldahlovou metodou na 0,41 % pro odrůdu ‘Hedelfingenská’ až 0,68 % pro odrůdu ‘Burlat’.

Potenciometrickou titrací byla stanovena titrační kyselost od 5,44 g kyseliny jablečné v 1 kg čerstvých třešní u odrůdy ‘Tamara’ po 9,61 g/kg u odrůdy ‘Hedelfingenská’ a formolové číslo od 14,45 ml 0,1 M NaOH ve 100 g třešní v odrůdě ‘Schneiderova’ po 23,73 ml/100 g v odrůdě ‘Tropfichterova’.

Dalšími sledovanými parametry byl obsah celkové sušiny v rozmezí 13,07 % u odrůdy ‘Tamara’ až 16,58 % shodně u odrůd ‘Hedelfingenská’ a ‘Velvet’, refraktometrické sušiny 14,67 °Brix pro odrůdu ‘Vilma’ až 19,50 °Brix pro odrůdu ‘Švestičková’ a obsah popela 0,31–0,39 % čerstvé hmotnosti u odrůd ‘Hedelfingenská’ resp. ‘Velvet’.

Plánovaná analýza kyseliny L-askorbové nemohla být provedena z důvodu znehodnocení vzorků následkem závady na mrazícím zařízení.

Všechny naměřené parametry byly porovnány s výsledky z jiných studií některých dalších odrůd třešní a výsledky byly ve většině případů porovnatelné a případné větší odchylky odůvodnitelné.

Tato práce může být použita jako součást rozsáhlejší studie věnující se chemické charakterizaci různých odrůd třešní, kterou budou moci využít pěstitelé a zpracovatelé při výběru vhodných odrůd pro jejich činnost.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] KUTINA, Josef. Pomologický atlas. Praha: Brázda, 1991. ISBN 80-209-0089-6.
- [2] Třešeň ptačí – Abecedazahrady.cz. Abecedazahrady.cz – Zahrada, rostliny, pěstování [online]. CZECH NEWS CENTER, 2019 [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <https://abecedazahrady.dama.cz/katalog-rostlin/tresen--ptaci>
- [3] PRUNUS AVIUM (L.) L. – třešeň ptačí / čerešňa vtáčia | BOTANY.cz. BOTANY.cz [online]. www.botany.cz, 2008 [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/prunus-avium/>
- [4] ÚRADNÍČEK, Luboš. Dřeviny České republiky. 2., přeprac. vyd. Kostelec nad Černými lesy: Lesnická práce, 2009. ISBN 978-80-87154-62-5.
- [5] PAPRŠTEIN, František, PATZAK Josef, SEDLÁK Jiří a HENYCHOVÁ Alena. Certifikovaná metodika hodnocení genofondu třešně s využitím molekulárně genetických metod. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2018. ISBN 978-80-87030-62-2.
- [6] Staré odrůdy třešní: Kaštánka, Karešova, Rychlice, Černá chrupka a další. IReceptář [online]. VLTAVA LABE MEDIA, 2019 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.ireceptar.cz/zahrada/uzitkova-zahrada/stare-odrudy-tresni-kastanka-karesova-rychlice-erna-chrupka-a-dalsi/>
- [7] TŘEŠNĚ, VIŠNĚ|ovocné stromky. Ovocné stromky [online]. [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <http://www.ovcnaskolka.cz/ovocnestromky/eshop/34-1-TRESNE-VISNE/51-2-Tresne>
- [8] Třešňové týdny. Aktuálně [online]. Místřice: Petr Blažek, 2016 [cit. 2019-04-28]. Dostupné z: <http://www.zahradkari-mistrice.cz/rady/124-articleid-4>
- [9] FALTA, Vladan. Vrtule třešňová: taxonomie, bionomie a ochrana. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, [2017]. ISBN 978-80-7427-220-2.
- [10] Vrtule třešňová - Atlas - Agromanuál.cz. Agromanuál.cz [online]. České Budějovice: Agromanual.cz, 2018 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.agromanual.cz/cz/atlas/skudci/skudce/vrtule-tresnova>
- [11] Moniliová hniloba plodů peckovin - Atlas - Agromanuál.cz. Agromanuál.cz [online]. České Budějovice: Agromanual.cz, 2018 [cit. 2019-03-31]. Dostupné z:

<https://www.agromanual.cz/cz/atlas/choroby/choroba/moniliova-hniloba-plodu-peckovin>

- [12] GONÇALVES, Berta, LANDBO Anne-katrine, KNUDSEN David, SILVA Ana P., MOUTINHO-PEREIRA José, ROSA Eduardo, MEYER Anne S. a GONÇALVES Berta. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of Cherries (*Prunus avium* L.). *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2004, 52(3), 523-530 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1021/jf030595s. ISSN 0021-8561. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/80137876/>
- [13] Centrum pro databázi složení potravin: Databáze složení potravin ČR, verze 7.16 [databáze online]. Praha: Ústav zemědělské ekonomiky a informací, 2016 [cit. 2018-04-15]. Dostupné z: <http://www.nutridatabase.cz/potraviny/?id=45#tab-2>
- [14] GARDINER, M. A., BEYER Richard a MELTON Laurence D. Sugar and anthocyanidin content of two processing-grade sweet cherry cultivars and cherry products. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* [online]. 1993, 21(3), 213-218 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1080/01140671.1993.9513771. ISSN 0114-0671. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01140671.1993.9513771>
- [15] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Vyd. 2. upr. Tábor: OSSIS, 2002. ISBN 80-866-5900-3.
- [16] NAWIRSKA, Agnieszka. a KWAŚNIEWSKA Monika. Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chemistry* [online]. 2005, 91(2), 221-225 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.10.005. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0308814603005314>
- [17] PRINSI, Bhakti, NEGRI Alfredo S., ESPEN Luca, PIAGNANI Claudia M. a PRINSI Bhakti. Proteomic Comparison of Fruit Ripening between 'Hedelfinger' Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) and Its Somaclonal Variant 'HS'. *Journal of agricultural and food chemistry* [online]. 2016, 64(20), 4171-4181 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1021/acs.jafc.6b01039. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1791718504/>
- [18] BISHOP, David G. a WADE Neil L. Lipid composition of sweet cherries. *Phytochemistry* [online]. Elsevier, 1977, 16(1), 67-68 [cit. 2019-04-21]. DOI:

- 10.1016/0031-9422(77)83015-X. ISSN 0031-9422. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194227783015X>
- [19] KODÍČEK, Milan, VALENTOVÁ Olga a HYNEK Radovan. Biochemie: chemický pohled na biologický svět. 2. přepracované vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2018. ISBN 978-80-7592-013-3.
- [20] KOMPRDA, Tomáš, 2012: Základy výživy člověka. 2. vydání, Brno: Mendelova Univerzita, 162 s. ISBN 978-80-7157-655-6
- [21] KOPEC, Karel. Tabulky nutričních hodnot ovoce a zeleniny. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998, 72 s. ISBN 80-861-5364-9.
- [22] BRAVO, Laura. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutrition Reviews [online]. Oxford, UK: Blackwell Publishing, 1998, 56(11), 317-333 [cit. 2019-04-26]. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x. ISSN 0029-6643. Dostupné z: <https://search.proquest.com/docview/212310380/fulltext/420DA217FA474179PQ/1?aaccountid=17115>
- [23] NAWIRSKA-OLSZAŃSKA, Agnieszka, KOLNIAK-OSTEK Joanna, OZIEMBLŃOWSKI Maciej, TICHA Alena, HYŠPLER Radomir, ZADAK Zdenek, ŽIDOVÁ Pavla a PAPRSTEIN Frantisek. Comparison of old cherry cultivars grown in Czech Republic by chemical composition and bioactive compounds. Food Chemistry [online]. Elsevier, 2017, 42(228), 136-142 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.01.154. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617301589?via%3Dihub>
- [24] USENIK, Valentina, FABČIČ Jerneja a ŠTAMPAR Franci. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (Prunus avium L.). Food Chemistry [online]. Elsevier, 2008, 107(1), 185-192 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.08.004. ISSN 0308-8146. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0308814607007790>
- [25] DEMIR, Taki. Determination of carotenoid, organic acid and sugar content in some sweet cherry cultivars grown in Sakarya, Turkey. Journal of Food, Agriculture & Environment [online]. 2013, 11(2), 73-75 [cit. 2019-04-26]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/profile/Taki_Demir/publication/283815342_Determinati

on_of_carotenoid_organic_acid_and_sugar_content_in_some_sweet_cherry_cultivars_grown_in_Sakarya_Turkey/links/569fb98408aee4d26ad27995.pdf

- [26] CORREIA, Sofia, SCHOUTEN Rob, SILVA Ana P., GONÇALVES Berta a CORREIA Sofia. Factors Affecting Quality and Health Promoting Compounds during Growth and Postharvest Life of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.). *Frontiers in plant science* [online]. 2017, 8, 2166-2166 [cit. 2019-04-26]. DOI: 10.3389/fpls.2017.02166. ISSN 1664-462X. Dostupné z: <http://search.proquest.com/docview/1989560651/>
- [27] NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 214/2004 ze dne 6. února 2004, kterým se stanoví obchodní normy pro třešně a višně.
- [28] VYHLÁŠKA č. 248/2018 Sb. Vyhláška o požadavcích na nápoje, kvasný ocet a droždí.
- [29] VYHLÁŠKA č. 157/2003 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování.
- [30] Třešeň 'Burlat'. Zahradnictví Spomysl [online]. Praha: Česká zahradnická společnost, 2019 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.zahradnictvi-spomysl.cz/tresen-burlat/>
- [31] Popisy odrůd - Třešně. Sempra Praha a.s. [online]. Praha: Sempra Praha, 2019 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <http://www.sempra.cz/odrudy/ovoce/popisy/tresen.htm>
- [32] TAXON *Prunus avium* 'Hedelfingenská'. Taxon Web [online]. Lednice: Zahradnická fakulta [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <http://www.taxonweb.cz/t/666>
- [33] Třešeň Sam. Prodej ovocných stromků [online]. Ostrožská Nová Ves: jukka.cz, 2015 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.jukka.cz/tresen-sam.htm>
- [34] Třešeň pozdní - chrupka 'Sam'. Zahradnictví Flos [online]. Řež u Prahy: Zahradnictví Flos, 2019 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.zahradnictvi-flos.cz/prunus-avium-sam-tresen-pozdni-chrupka-sam.html>
- [35] Ovocnářské vzdělávání na Hlučínsku. Ovocnářské vzdělávání na Hlučínsku [online]. webadmin&design, 2012 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <http://ovoce.hlucinsko.eu/?page=texty&p=0&g=4&m=&id=91>
- [36] PAPRŠTEIN, František a KLOUTVOR Josef. Historické odrůdy třešní a višní pěstovaných na území České republiky: Historical cultivars of sweet and sour cherries grown in territory of the Czech Republic. Holovousy: Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy, 2015. ISBN 978-80-87030-13-4.

- [37] Třešeň Tamara. Prodej ovocných stromků [online]. Ostrožská Nová Ves: jukka.cz, 2015 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.jukka.cz/tresen-tamara.htm>
- [38] Třešeň 'Tamara®'. Zahradnictví Spomysl [online]. Praha: Česká zahradnická společnost, 2019 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <https://www.zahradnictvi-spomysl.cz/tresen-tamara/>
- [39] Tropichterova – databáze odrůd ovocných dřevin. Databáze odrůd ovocných dřevin [online]. WordPress, 2015 [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: http://jirivyslouzil.cz/databaze_ovoce/tropichterova/
- [40] Archivní odrůdy ovoce. Staré odrůdy [online]. [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: <http://www.plantsdata.com/WebOvoceVysledek.aspx?ovoce=T%C5%99e%C5%A1n%C4%9B&odruda=Tropichterova>
- [41] Vilma (chrupka) – Databáze odrůd ovocných dřevin. Databáze odrůd ovocných dřevin [online]. WordPress [cit. 2019-03-29]. Dostupné z: http://jirivyslouzil.cz/databaze_ovoce/vilma-chrupka/
- [42] Mechanism of Normal Phase Chromatography. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=0&fSco=7&fPath=sco7/hplc_2_4.asp
- [43] Mechanism of Reversed Phase HPLC. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=0&fSco=7&fPath=sco7/hplc_2_4.asp
- [44] HPLC Solvent Pumping Systems. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=29&fPath=sco29/hplc_3_2_1.asp
- [45] Autosamplers. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=33&fPath=sco33/hplc_3_3_1.asp

- [46] Silica as a Packing Material. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=0&fSco=4&fPath=sco4/hplc_2_1.asp
- [47] Detectors for HPLC - Introduction. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp
- [48] General Terms and Concepts. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp
- [49] UV - Vis Detectors, The Flow Cell. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp
- [50] Variable Wavelength UV - Vis Detectors. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp
- [51] UV Detectors - Diode Array Detectors. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp
- [52] Fluorescence Detectors. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.asp

chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.as
p

[53] Refractive Index Detectors - Instrumentation. CHROMacademy [online]. Strathaven, Scotland: Crawford Scientific [cit. 2018-06-14]. Dostupné z: https://www.chromacademy.com/frameset-chromacademy.html?fChannel=0&fCourse=1&fSco=35&fPath=sco35/hplc_3_5_1.as
p

[54] ELSD - DETEKTOR|HPLC.CZ|Evaporative Light Scattering HPLC Detector|. |HPLC|High Performance Liquid Chromatography|[online]. Michal Douša, 2011 [cit. 2019-04-05]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/teorie/elsd.htm>

[55] 1260 Infinity Evaporative Light Scattering Detector. Ingeniería Analítica [online]. Barcelona: Ingeniería Analítica, S.L., 2015 [cit. 2019-04-05]. Dostupné z: <http://www.ingenieria-analitica.com/detector-1260-infinity-elsd.html>

[56] POPESCU, Mihai a NICOLESCU Raluca. Vintilă Ciocâlțu (1891–1947): physician, biochemist, poet and professor. Clujul Medical. 2013, 86(2), 160-163. Dostupné také z: <https://scidoc.org/articlepdfs/IJFS/IJFS-2326-3350-03-801.pdf>

[57] AGBOR, Gabriel A., VINSON Joe A. a DONNELLY Patrick E. Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics. 2014, 3(8), 147-156. DOI: 10.19070/2326-3350-1400028. ISSN 23263350. Dostupné také z: <https://scidoc.org/articlepdfs/IJFS/IJFS-2326-3350-03-801.pdf>

[58] SINGLETON, Vernon L. a ROSSI Josef A., JR. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. American Journal of Enology and Viticulture [online]. 1965, 16(3), 144-158 [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144.article-info>

[59] HRSTKA, Miroslav., SOMROVÁ Lenka. Praktikum z analytické chemie potravin. Brno, 2013, 55 s

[60] KLECKEROVÁ, Andrea. Chemie potravin: laboratorní cvičení. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-170-3.

[61] LEE, Sang, VANCE Terrence, NAM Tae-gyu, KIM Dae-ok, KOO Sung a CHUN Ock. Evaluation of pH differential and HPLC methods expressed as cyanidin-3-glucoside equivalent for measuring the total anthocyanin contents of berries. Journal of Food Measurement and Characterization [online]. New York: Springer US, 2016, 10(3), 562-

568 [cit. 2019-04-06]. DOI: 10.1007/s11694-016-9337-9. ISSN 2193-4126. Dostupné z: <https://link-springer-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/article/10.1007/s11694-016-9337-9#citeas>

- [62] LEE, Jungmin, RENNAKER Christopher a WROLSTAD Ronald E. Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. Food Chemistry [online]. 2008, 2009, 110(3), 782-786 [cit. 2019-03-21]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.03.010. ISSN 03088146. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881460800304X>
- [63] BOBEROVÁ, Jana. Základní chemické parametry plodů několika odrůd třešní. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 50 s. Vedoucí bakalářské práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.
- [64] KOMÁREK, Šimon. Základní chemické parametry plodů několika odrůd višní. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 50 s. Vedoucí bakalářské práce PhDr. Miroslav Hrstka, Ph.D.
- [65] OANCEA, Simona, DRAGHICI Olga a KETNEY Otto. Changes in total anthocyanin content and antioxidant activity in sweet cherries during frozen storage, and air-oven and infrared drying. Fruits [online]. INT SOC HORTICULTURAL SCIENCE-ISHS, 2016, 71(5), 281-288 [cit. 2019-04-02]. DOI: 10.1051/fruits/2016025. ISSN 0248-1294. Dostupné z: <https://search.proquest.com/docview/2196539073/48DB852D1E0A4ACFPQ/1?accountid=17115>
- [66] BERNALTE, Josefa M., HERNÁNDEZ Teresa M., VIDAL-ARAGÓN Carmen M. a SABIO Eduardo. Physical, chemical, flavor and sensory characteristics of two sweet cherry varieties grown in 'Valle del Jerte' (Spain). Journal of Food Quality [online]. 1999, 22(4), 403-416 [cit. 2019-04-07]. Dostupné z: <https://onlinelibrary-wiley-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/epdf/10.1111/j.1745-4557.1999.tb00173.x>
- [67] USENIK, Valentina, FAJT Nikita, MIKULIC-PETKOVSEK Maja, SLATNAR Ana, STAMPAR Franci a VEBERIC Robert. Sweet cherry pomological and biochemical characteristics influenced by rootstock. Journal of agricultural and food chemistry [online]. 2010, 58(8), 4928 [cit. 2019-04-07]. DOI: 10.1021/jf903755b. Dostupné z: <https://pubs-acs-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/pdf/10.1021/jf903755b>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ČR.....	Česká republika
ELSD	Evaporative Light Scattering Detector
FAD	flavinadenindinukleotid
FMN	flavinmononukleotid
HB	hrubá bílkovina
HPLC.....	High Performance Liquid Chromatography
MF	mobilní fáze
m n. m.....	metrů nad mořem
MS	Mass Spectrometry
např.....	například
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
NADP	nikotinamidadenindinukleotid fosfát
ppm.....	parts per million
resp.	respektive
RP-LC.....	reversed phase liquid chromatography
S/N.....	Signal to Noise ratio
SF	stacionární fáze
syn.	synonymum
tzv.....	takzvaný
UV/VIS.....	Ultra Violet/Visible

SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 – kalibrační přímka pro koncentraci kyseliny gallové	36
Graf 2 – grafické znázornění obsahu fenolických látek v jednotlivých odrůdách	38
Graf 3 – Obsah rozpustné sušiny v jednotlivých odrůdách.....	41
Graf 4 – Obsah celkové sušiny v jednotlivých odrůdách.....	44
Graf 5 – obsah celkového dusíku v jednotlivých odrůdách třešní	48
Graf 6 – titrační kyselost v jednotlivých odrůdách třešní	51
Graf 7 – formolové číslo v jednotlivých odrůdách třešní.....	55
Graf 8 – obsah popela v jednotlivých odrůdách.....	58
Graf 9 – obsah sacharidů v jednotlivých odrůdách	62
Graf 10 – celkový obsah antokyanů vyjádřený koncentrací kyanidin-3-glukosidu.....	67

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 – taxonomické zařazení třešně ptačí [1].....	11
Tabulka 2 – třešňové týdny [8]	12
Tabulka 3 – obsah vitamínů a minerálů v plodech třešně [21]	15
Tabulka 4 – vlastnosti vybraných detektorů [48].....	30
Tabulka 5 – datum sklizně jednotlivých odrůd	33
Tabulka 6 – metody analýzy zvolené pro jednotlivé parametry	34
Tabulka 7 – Naměřené hodnoty absorbance A, vypočtené koncentrace fenolických látek c a směrodatné odchylky σ	37
Tabulka 8 – Naměřené hodnoty indexu lomu n_{20} , sušiny a směrodatné odchylky sušiny σ	39
Tabulka 9 – Vypočtené hodnoty celkové sušiny a směrodatné odchylky σ	42
Tabulka 10 – Obsah celkového dusíku N_2 a jeho směrodatné odchylky σ a hrubé bílkoviny v jednotlivých odrůdách třešní	46

Tabulka 11 – titrační kyselost a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní	50
Tabulka 12 – formolové číslo a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní.....	53
Tabulka 13 – obsah popela a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní.....	56
Tabulka 14 – Průměrný obsah jednotlivých sacharidů a jejich celkový obsah v 1 kg čerstvé hmotnosti	61
Tabulka 15 – koncentrace antokyanů a směrodatné odchylky σ v jednotlivých odrůdách třešní	65
Tabulka 16 – Shrnutí průměrných hodnot všech měřených parametrů 1. část	68
Tabulka 17 – Shrnutí průměrných hodnot všech měřených parametrů 2. část	69

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – flavanové jádro [22].....	17
Obrázek 2 – struktura antokyanidinu [22].....	17
Obrázek 3 – plod odrůdy ‘Burlat’	22
Obrázek 4 – plod odrůdy ‘Hedelfingenská’	22
Obrázek 5 – plod odrůdy ‘Sam’	23
Obrázek 6 – plod odrůdy ‘Schneiderova’	23
Obrázek 7 – plod odrůdy ‘Švestičková’	24
Obrázek 8 – plod odrůdy ‘Tamara’	24
Obrázek 9 – plod odrůdy ‘Tropichterova’	25
Obrázek 10 – plod odrůdy ‘Velvet’	26
Obrázek 11 – plod odrůdy ‘Vilma’	27
Obrázek 12 – kalibrační křivka pro stanovení fruktózy	60
Obrázek 13 – kalibrační křivka pro stanovení glukózy.....	60
Obrázek 14 – ukázka chromatogramu měření standardů	63
Obrázek 15 – ukázka chromatogramu stanovení sacharidů	63